



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی قزوین

دانشکده پزشکی شهیدباپی

پایان نامه جهت دریافت دکترای حرفه ای پزشکی عمومی

عنوان پایان نامه

بررسی ارتباط سطح خونی هموسیستئین با شدت بیماری پارکینسون
القاء شده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی

استاد راهنما: دکتر هاشم حقدوست یزدی

استاد مشاور: دکتر حسن جهانی هاشمی

نگارش:

آیدا فرجی

سال تحصیلی ۱۳۹۵-۱۳۹۴

شماره ثبت: ۱۰۹۱

حمد و سپاس بی انتها خدای عزوجل را که به بنده توفیق تحصیل و تلاش و خدمت
به خلقش را بخشید

تقدیم به مادر عزیزم که در تمام سالهای تحصیل و زندگی زحمات بی شمار
و جبران ناپذیری برای من متحمل شدند

تقدیم به همسر عزیزم که همواره یار من و صبور در برابر سختی هایم بود

تقدیم به همه ی اساتید مهربان و از خود گذشته که علم خود را
بی دریغ بر من آموختن.

چکیده:

مقدمه و هدف: شواهدی وجود دارد که نشان می دهد هموسیستئین در پاتوفیزیولوژی چندین بیماری عصبی همچون پارکینسون دخالت دارد. در این مطالعه ارتباط سطح سرمی هموسیستئین و شدت علائم رفتاری پارکینسون در مدل ۶-هیدروکسی دوپامین (۶-OHDA) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: آزمون چرخش القاء شده با آپومورفین در هفته های دوم، سوم و ششم بعد از تزریق OHDA ۶- انجام گرفت. سطح کلی هموسیستئین (tHcy) قبل از تزریق ۶-OHDA، شش هفته پس از آن اندازه گیری شد.

نتایج: ارتباطی بین tHcy قبل از تزریق ۶-OHDA و شدت چرخش ها بعد از تزریق ۶-OHDA مشاهده نشد. از طرف دیگر تزریق ۶-OHDA به میزان قابل ملاحظه ای tHcy را کاهش داد لکن این اثر در موش های پارکینسونی با شدت چرخش کم مشاهده شد و در موش های صحرایی با شمار چرخش بالا، تغییر معنی داری در tHcy مشاهده نشد.

نتیجه گیری: ازانجایی که ارتباط مستقیمی بین شدت چرخش های القاء شده با آپومورفین با درجه آسیب سلولی در هسته جسم سیاه وجود دارد، نتایج ما نشان می دهند که مقادیر بالاتر tHcy می تواند نشان دهنده آسیب نوروئی بیشتر در این هسته باشد.

واژه های کلیدی: هموسیستئین، پارکینسون، ۶-هیدروکسی دوپامین، چرخش القاء شده با آپومورفین

الف- اهداف اصلی طرح (General Objectives)

- سطح خونی هموسیستین در موشهای صحرایی پارکینسونی شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین

ب- اهداف فرعی طرح (Specific Objectives)

- ارتباط سطح هموسیستین در سرم موشهای صحرایی قبل از تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین با تعداد چرخش های القاء شده با اپومرفین پس از جراحی
- ارتباط سطح هموسیستین در سرم موشهای صحرایی پس از تزریق سم ۶-هیدروکسی دوپامین با تعداد چرخش های القاء شده با اپومرفین پس از جراحی
- اندازه گیری سن موشهای صحرایی در گروه های پارکینسونی القاشده توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین

ج- اهداف کاربردی (Applied Objectives)

- یافتن راهی برای پیشگیری و کاهش سیر بیماری پارکینسون با استفاده از تعدیل سطح هموسیستین پلاسما در بیماران

د- فرضیه ها (Hypothesis) یا سؤال های پژوهش:

- بین شدت پارکینسون القاشده توسط آپومورفین بعد از جراحی با غلظت هموسیستین قبل از جراحی ارتباط مستقیم وجود دارد.
- رابطه ی مستقیم بین شدت پارکینسون القاشده توسط آپومورفین پس از جراحی با غلظت هموسیستین پلاسما، پس از جراحی وجود دارد.
- بین سطح خونی هموسیستین در موشهای صحرایی و سن موشها ارتباط مستقیم وجود دارد.

فهرست مطالب

فصل اول.....	۸
مقدمه.....	۸
فصل دوم.....	۱۱
مروری بر متون.....	۱۱
بیماری پارکینسون.....	۱۲
مدلهای حیوانی.....	۲۷
هوموسیستئین.....	۳۱
هیپر هموسیستئمی و بیماریها:.....	۴۴
فصل سوم.....	۵۲
مواد و روش کار.....	۵۲
فصل چهارم.....	۶۰
نتایج.....	۶۰
فصل پنجم.....	۶۴
بحث و نتیجه گیری.....	۶۴
پیشنهادهات.....	۷۱
فصل ششم.....	۷۲
منابع.....	۷۲
Abstract.....	۷۹
ضمیمه ی صفحه ی اول مقاله ی نتیجه ی کار.....	۸۰

فهرست تصاویر

- ۱ شکل ۱. عقده های قاعده ای و محل قرار گیری آن ها در برش کورونال (بالا) و ساژیتال (پایین) مغز ۱۵
- ۲ شکل ۲. مسیر مستقیم و غیر مستقیم در عقده های قاعده ای ۱۶
- ۳ شکل ۳. مرگ نورون های دپامینرژیک (DA) توسط استرس اکسیداتیو ۲۱
- ۴ شکل ۴. مسیرهای پاتوژنیک که در مرگ نورون های دپامینرژیک هسته جسم سیاه سهم می باشند ۲۲
- ۵ شکل ۵. نمای پاتولوژیک مغز بیماران پارکینسونی ۲۴
- ۶ شکل ۶. مکان های مداخله جراحی برای درمان بیماری پارکینسون ۲۷
- ۷ شکل ۷. مکانیسم آسیب زایی سم MPTP ۳۰
- ۸ شکل ۸. نمای شماتیک متابولیسم هموسیستئین ۳۲
- ۹ شکل ۹. ساختار شیمیایی هموسیستئین ۳۴
- ۱۰ شکل ۱۰. متابولیسم فولات کبدی، گروه متیل و هموسیستئین ۳۹
- ۱۱ شکل ۱۱. نمایش شماتیک فعالیت ERK القاء شده با Hcy ۴۳
- ۱۲ شکل ۱۲. نمایش شماتیک آسیب زایی هموسیستئین ۴۳
- ۱۳ شکل ۱۳: حیوان در دستگاه استرئوتاکس. سطح استخوان جمجمه حیوان قابل مشاهده می باشد ۵۹

فهرست نمودارها

- نمودار ۱: میزان tHcy قبل و در هفته ششم پس از تزریق ۶-OHDA ۶۲
- نمودار ۲: ارتباط بین میزان چرخش القاء شده باآپومورفین و سطح کلی هموسیستئین درموشهای صحرایی تحت تأثیر ۶-OHDA .. ۶۳

فهرست جداول

- جدول ۱: غلظت اشکال مختلف هموسیستئین در خون انسان ۳۴

فصل اول

مقدمه

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع نورودژنراتیو بعد از بیماری آلزایمر می باشد که ۲۰۰ نفر را در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر مبتلا می سازد. علائم کلینیکی آن عبارتند از لرزش در حالت استراحت، rigidity، برادی کینزیا/آکینزیا، اختلال در راه رفتن و عدم ثبات در وضعیت و صورت ماسکی شکل ۱۵،۲۳،۲۶. در حال حاضر درمان شناخته شده ای برای این بیماری وجود ندارد با وجود این علائم آن می تواند بوسیله درمانهای دارویی کنترل شود. درمان با L-DOPA مدتهاست که مورد استفاده قرار می گیرد و استاندارد طلایی برای آن می باشد. با وجود این، کارایی این درمان با مرور زمان کاهش می یابد و اغلب اختلال در اعمال حرکتی و واکنش های سایکوتیک و دیس کینزیا ظاهر می شوند. از این رو در حال حاضر تحقیقات به سمت شناخت روش های نوین برای جلوگیری از مرگ نورون های دپامینرژیک در جسم سیاه و کند کردن پیشرفت این بیماری می باشد.

پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون به خوبی شناسایی نشده است. مهمترین عامل پاتوفیزیولوژیک بیماری پارکینسون مرگ نورونهای دپامینرژیک در بخش متراکم هسته جسم سیاه و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. در اکثر موارد بیماری پارکینسون هنگامی از نظر کلینیکی ظاهر می شود که ۷۰-۶۰٪ نورونهای دپامینرژیک هسته جسم سیاه تخریب شوند. مطالعه برروی دوقلوها نشان داده است که وراثت نمی تواند نقش عمده ای در اتیولوژی این بیماری داشته باشد و در حدود ۹۵٪ موارد رابطه مشخص ژنتیکی وجود ندارد. نشان داده شده است که در بیماری پارکینسون کمپلکس I از زنجیره انتقال الکترون در میتوکندریها دچار نقصان می شود. این نقص در عمل میتوکندریها می تواند سبب مرگ نورونی گردد ۱۳،۲۰،۳۲،۹.

هموسیستئین یک آمینواسید حاوی سولفور و همولوگ آمینواسید سیستئین میباشد. L-هموسیستئین یک آمینواسید اندوژن است و شامل یک گروه تیول آزاد است که در سلولهای سالم در سترزمتونین و سیستئین به

کار می‌رود. بخش زیادی از Hcy که به پروتئین متصل نیست، اکسید شده و شکل دیمران یعنی هموسیستین به وجود می‌آید. هم چنین، به صورت غیر مستقیم، هموسیستین در متابولیسم متیل، فولات و تیول سلولی شرکت دارد (D, Angelo & selhub, ۱۹۹۷). حدود ۸۰ درصد از سطح کلی هموسیستین پلاسما به صورت متصل شده با پروتئین هاست و مقدار کمی به صورت احیاء شده ی آزاد وجود دارد (۱، ۰.۱ μM). HHcy در حدود ۵٪ از افراد جامعه دیده شده است و با افزایش ریسک بسیاری از بیماری‌ها از جمله: بیماری‌های عروقی، نورودژنراتیو، خودایمنی، نقص‌های بدو تولد، دیابت، بیماری‌های کلیوی، استئوپروز، بیماری‌های روان‌پزشکی و سرطان‌ها در ارتباط است.

در این تحقیق ما غلظت کلی هموسیستین را قبل از انجام جراحی القاء کننده ی پارکینسون با استفاده از مدل حیوانی ۶-OHDA و بعد از انجام جراحی در پلاسما اندازه گیری کردیم.

در این مدل سم نورو توکسین ۶- هیدروکسی دی‌آمین (۶-OHDA) بدون مغز تزریق می‌شود. این سم بطور انتخابی نورون‌های دی‌آمینرژیک هسته جسم سیاه را تخریب می‌کند و سبب بروز علائم رفتاری در موش‌ها می‌شود که به نام پارکینسونیسم القاء شده توسط ۶-OHDA شناخته می‌شود.

فصل دوم

مروری بر متون

بیماری های نورودژنراتیو:

بیماری های نورودژنراتیو مجموعه ای از اختلالات می باشند که بافت های عصبی و مغز را مورد حمله قرار داده و کنترل ماهیچه ای، یادگیری، تفکر و یادآوری خاطرات را مختل می کنند. در این بیماری ها عمدتاً عملکرد میتوکندری ها دچار اختلال می شود. آسیب به ساختار میتوکندری باعث آسیب بافتی به مغز می شود و آسیب پیشرونده بافت مغزی منجر به کاهش توانایی مغز در کنترل حرکت و تفکر می شود. زوال عقل به کاهش پیشرونده در عملکرد مغزی اطلاق می شود که حافظه، رفتار، توانایی های زبانی، حل مسئله و میزان توجه را مختل می کند. (۱۲) رایج ترین بیماری های نورودژنراتیو عبارتند از:

بیماری آلزایمر: آلزایمر بیماری است که شخص توانایی به یاد آوردن، فکر کردن، درک کردن، برقراری ارتباط و کنترل رفتار را از دست می دهد.

بیماری MS: مشخصه این بیماری از بین رفتن میلین مغز و طناب نخاعی است.

بیماری پارکینسون

بیماری پارکینسون یک بیماری نورودژنراتیو است که پس از الزایمر شایعترین اختلال نورودژنراتیو مرتبط با سن میباشد این بیماری ابتدا توسط دکتر جیمز پارکینسون، پزشک انگلیسی در ۱۸۱۷ در مقاله ای با عنوان "An Essay on the Shaking Palsy" مطرح شد. پنجاه سال بعد، ۴ نشانه مخصوص برای تشخیص بیماری تعیین و عنوان آن به افتخار دکتر پارکینسون، بیماری پارکینسون نامیده شد. تنها در ایالات متحده آمریکا ۲۰۰ نفر را در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر مبتلا می سازد. بررسی ها، میزان شیوع بالا را در ایالات متحده آمریکا و اروپا (بین ۱۰۸ تا ۳۴۷ در ۱۰۰،۰۰۰) و شیوع کم آن را در ژاپن، چین، نیجریه و ساردی نیا (بین ۴۴ تا ۸۱ در ۱۰۰،۰۰۰) نشان داد. برآورد می شود شیوع پارکینسون در ایران، ۱۵۰ مورد در یکصد هزار نفر جمعیت کشور (یعنی ۱۵ مورد در ده هزار نفر) باشد. در حال حاضر حدود ۳ هزار بیمار شناخته شده مبتلا به

پارکینسون در کشور وجود دارد. حدود ۱۵ درصد مبتلایان به پارکینسون پیش از ۵۰ سالگی تشخیص داده می‌شوند. در بیماری پارکینسون، مردان و زنان به یک اندازه به این بیماری دچار می‌شوند و هیچ نژادی نسبت به این بیماری در امان نمی‌باشد. در این بیماری مجموعه‌ای از اختلالات حرکتی و در مراحل پیشرفته شناختی بوجود می‌آید. این بیماری به سبب اختلال در عملکرد مراکز در مغز که به نام عقده‌های قاعده‌ای (basal ganglia) شناخته می‌شوند بروز می‌نماید.

عقده‌های قاعده‌ای، یک سیستم حرکتی فرعی هستند که در ارتباط با قشر مغز و سیستم قشری-نخاعی عمل می‌کنند. اعمال این عقده‌ها برنامه‌ریزی و کنترل طرح‌های پیچیده حرکات عضلانی بوده و شدت‌های نسبی حرکات متوالی، جهت‌های حرکت و توالی حرکات چندگانه پشت سر هم و موازی برای انجام هدف‌های پیچیده حرکتی ویژه را کنترل می‌کنند (۱۳)

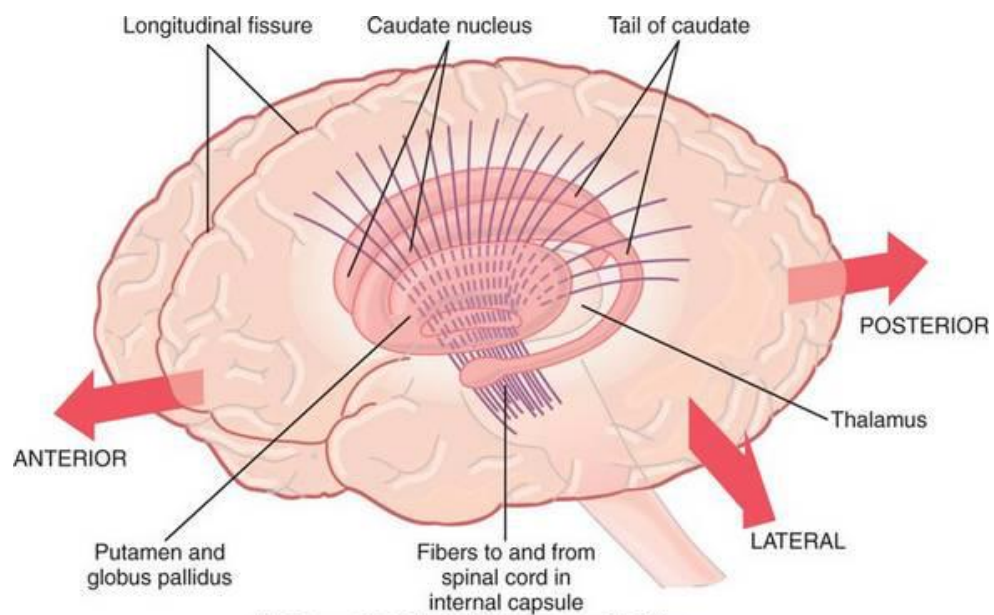
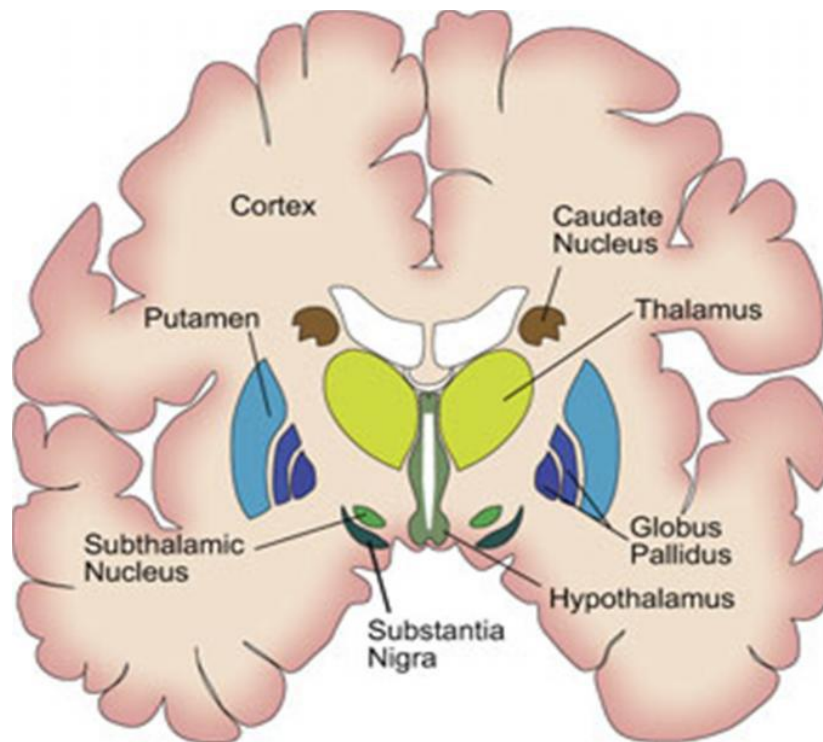
از نقطه نظر فیزیولوژیک عقده‌های قاعده‌ای شامل ۵ قسمت هسته‌کودت، پوتامن و گلوبوس پالیدوس در مغز جلویی، هسته ساب تالاموس در دیانسفال و جسم سیاه (substantia nigra) در مزانسفال می‌شوند. به مجموع هسته‌کودت و پوتامن، استریاتوم می‌گویند. جسم سیاه دارای دو بخش متراکم (pars compacta, SNc) و مشبک (pars reticulate, SNr) می‌باشد (شکل ۱).

استریاتوم دریافت‌کننده اصلی آورانها به عقده‌های قاعده‌ای می‌باشد. این ورودیها شامل فیبرهای گلوتاماتینرژیک که از تمامی نواحی قشر مغز منشا می‌گیرند، فیبرهای دوپامینرژیک از بخش متراکم ماده سیاه و فیبرهایی از تالاموس می‌باشند. خروجی‌ها از عقده‌های قاعده‌ای از بخش مشبک جسم سیاه و بخش داخلی گلوبوس پالیدوس منشا می‌گیرند. این فیبرها بطور تونیک هسته‌های هدفشان را در تالاموس و ساقه مغز مهار می‌نمایند (۲،۵،۱۱).

استریاتوم از طریق مسیرهای مستقیم و غیر مستقیم هسته های تالاموسی را تحت تاثیر قرار می دهد (شکل ۲). هر دو این مسیرها از پوتامن منشا گرفته و گاباارژیک می باشند. مسیر مستقیم در بخش داخلی گلوبوس پالیدوس و بخش مشبک ماده سیاه ختم می شود. این مسیر از همان نورونهای منشا می گیرد که ورودیهای قشری را دریافت می دارند. تحریک این مسیر، مهار را از روی هسته های تالاموسی که توسط بخش داخلی گلوبوس پالیدوس و ماده سیاه اعمال می شود بر می دارد^{۱۱}.

مسیر غیر مستقیم، بخش خارجی گلوبوس پالیدوس را درگیر می نماید. این بخش هسته ساب تالاموس را مهار می نماید. با مهار بخش خارجی گلوبوس توسط استریاتوم، هسته ساب تالاموس فعال شده و فعالیت بخش داخلی گلوبوس پالیدوس را افزایش می دهد که سبب مهار بیشتر هسته های تالاموسی می شود^{۱۱}.

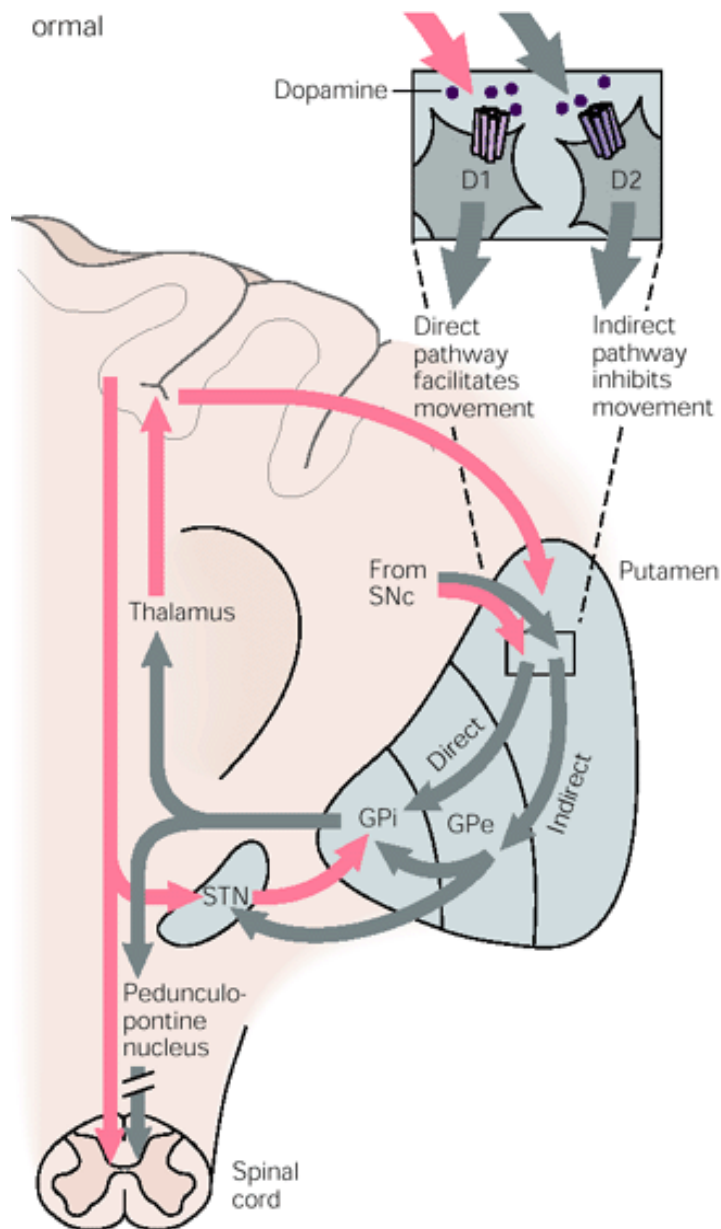
بررسی این مسیرها نشان می دهد که در جریان یک حرکت، مسیر مستقیم فیدبک مثبت اعمال کرده و با افزایش فعالیت تالاموس و قشر، حرکت را تسهیل می نماید. از طرف دیگر مسیر غیر مستقیم فیدبک منفی اعمال کرده و مهار حرکت را سبب می شود. نورونهای که منشا مسیر مستقیم می باشند دارای گیرنده D_1 برای دوپامین می باشند. این گیرنده تحریکی می باشد. آنهایی که مسیر غیر مستقیم را تشکیل می دهند، گیرنده D_2 داشته که مهاری می باشد. بر این اساس، فیبرهای دوپامینرژیک از بخش متراکم جسم سیاه که در استریاتوم ختم می شوند، انتقال در مسیر مستقیم را تسهیل می نمایند و انتقال در مسیر غیر مستقیم را مهار می نمایند. بیماریهایی که بازال گانگلیا را درگیر می نمایند موجب فعال شدن و یا مهار بیش از حد یکی از این مسیرها می شوند. چنانچه تعادل به نفع مسیر مستقیم باشد، اختلالات هیپرکینتیک رخ می دهد و اگر تعادل به نفع مسیر غیر مستقیم باشد، اختلالات هیپوکینتیک ایجاد می شود^{۱۱،۲۱}.



Hall: Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, 12th Edition
Copyright © 2011 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. All rights reserved.

۱ شکل ۱. عقده های قاعده ای و محل قرار گیری آن ها در برش کورونال (بالا) و سائیتال (پایین)

مغز



۲ شکل مسیر مستقیم و غیر مستقیم در عقده های قاعده ای

مسیرهای مهارى با فلش های تیره و مسیر تحریکی با فلش های روشن نشان داده شده است. فیبرهای دوپامینرژیک از بخش متراکم جسم سیاه با اثر بر گیرنده های D_1 نورون های مسیر مستقیم را تحریک کرده و با اثر بر گیرنده های D_2 نورون های مسیر غیر مستقیم را مهار می نمایند GPI : بخش داخلی گلوبوس پالیدوس، GPe : بخش خارجی گلوبوس پالیدوس، STN : هسته ساب تالامیک، SNC : قسمت متراکم ماده سیاه

علائم بیماری پارکینسون:

مهمترین علامت این بیماری لرزش و یا لغوه می باشد که عبارتست از ارتعاش و یا لرزش دست و پا و خود بیمار در حالت استراحت. علائم دیگر این بیماری عبارتست از برادی کینزیا (Bradykinesia) که ضعف و کندی حرکات ارادی می باشد و اکینزیا (Akinesia) که فقدان حرکت و یا سختی حرکت می باشد که سبب خشک شدن دست و پا یا کل بدن می گردد. این اختلالات سبب بروز علائم دیگر از جمله تعادل بد یا ضعیف، صورت ماسکی شکل که ناشی از عدم توانایی بیمار در تغییر حالت چهره می باشد و همچنین اختلال در قدم زدن و راه رفتن که سبب می شود بیمار پاهای خود را در هنگام حرکت بر روی زمین بکشد و یا به اصطلاح لُخ لُخ نماید. در مراحل پیشرفته بیماری اختلالات شناختی همچون بیماری الزایمر بروز می کند.

پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون

پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون به خوبی شناسایی نشده است. تحقیقات زیادی که در مورد علت ویروسی یا باکتریایی این بیماری انجام شده عدم ارتباط این نوع میکروبها را با بیماری پارکینسون ثابت کرده است و بنابراین می توان گفت که پارکینسون یک بیماری عفونی نمی باشد. مهمترین عامل پاتوفیزیولوژیک بیماری پارکینسون مرگ نورونهای دپامینرژیک در بخش متراکم هسته جسم سیاه و کاهش متعاقب دپامین در استریاتوم ایجاد می گردد. در اکثر موارد بیماری پارکینسون هنگامی از نظر کلینیکی ظاهر می شود که ۷۰-۶۰٪ نورونهای دپامینرژیک هسته جسم سیاه تخریب شوند. معتقد هستند که مرگ نورونی در این بیماری می تواند هم از عوامل ژنتیکی ناشی گردد و هم عوامل محیطی در آن دخالت دارند^{۳۴،۲۵}. مطالعات ژنتیکی موتاسیونهایی در ژنهایی که پروتئین های α -synuclein ، ubiquitin و همچنین parkin را کد می نمایند را شناسایی نموده اند^{۳۴}. از طرف دیگر مطالعه بر روی دوقلوها نشان

داده است که وراثت نمی تواند نقش عمده ای در اتیولوژی این بیماری داشته باشد. در حدود ۹۵٪ موارد رابطه مشخص ژنتیکی وجود ندارد در همین ارتباط اخیرا نشان داده شده است که پارکینسونیسم می تواند در ارتباط با در معرض قرار گرفتن طولانی مدت با افت کش ها حاصل گردد^{۶۰۲۴}. نشان داده شده است که در بیماری پارکینسون کمپلکس I از زنجیره انتقال الکترون در میتوکندریها دچار نقصان می شود. این نقص در عمل میتوکندریها می تواند سبب مرگ نورونی گردد. هیدروژن پراکسید، یکی از ترکیبات حاصل از اکسیداسیون دپامین، به ماتریکس میتوکندریها منتشر شده و می تواند سبب تغییر در عملکرد میتوکندریها گردد^{۱۸،۳۲،۳۴،۹}.

در مجموع دو فرضیه در مورد پاتوژنز بیماری پارکینسون وجود دارد. یک فرضیه بیان می کند که تاخوردن نادرست و انباشتگی پروتیین ها سبب مرگ نورون های دوپامینرژیک می شود و فرضیه دوم بیان می کند که عامل اصلی، نقص عملکرد میتوکندری و استرس اکسیداتیو متعاقب آن است.

تاخوردن نادرست و انباشتگی پروتیین ها:

قرار گیری غیر طبیعی پروتیین ها در بافت مغزی، رخدادی است که در بیماری های نورودژنراتیو وابسته به سن متعددی ایجاد می شود. با وجودی که ترکیب و محل انباشتگی پروتیین ها در بیماری های مختلف، متفاوت است، این رخداد پیشنهاد می کند که این اتفاق برای نورون ها مضر است. پروتیین هایی که تاخوردگی نادرست پیدا کرده اند، به دو صورت محلول و غیرمحلول وجود دارند و می توانند از طریق مکانیسم های متعددی، نوروتوکسیک باشند. انباشتگی پروتیین ها می تواند مستقیما آسیب ایجاد کند، احتمالا از طریق تغییر شکل سلول یا تداخل با انتقال پیام های عصبی. بیمارانی که پارکینسون غیر توارثی دارند، بنظر می رسد که جهش های پاتوژنیک می توانند مستقیما از طریق ایجاد ساختارهای

پروتئینی غیر نرمال و سمی و به طور غیر مستقیم با تداخل در فرایند هایی که تاخوردگی نادرست پروتئین ها را شناسایی می کنند، ایجاد بیماری نمایند. ۱۶

عملکرد غیر طبیعی میتوکندری و استرس اکسیداتیو:

شواهد بسیاری نشان می دهد که در بیماری پارکینسون عملکرد کمپلکس میتوکندریایی I بطور قابل توجهی کاهش می یابد. تقریباً ۱۰۰٪ اکسیژن مولکولی توسط میتوکندری در جریان تنفس سلولی مصرف می شود و اکسیدان های قدرتمند شامل پراکسید هیدروژن و رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS)، بعنوان محصول فرعی تولید می شوند. با مهار کمپلکس I تولید سوپر اکسید افزایش یافته که می تواند رادیکال های هیدروکسیل سمی را ایجاد کند یا اینکه با نیتریک اکسید واکنش داده و پراکسی نیتريت را ایجاد کند. این مولکول ها می توانند با واکنش با اسید های نوکلئیک، پروتئین ها و چربیها، ایجاد آسیب نمایند. یکی از این آسیب ها می تواند درزنجره انتقال الکترون رخ دهد که به آسیب میتوکندری و ایجاد رادیکال ROS منجر شود که می تواند تاخوردگی نادرست پروتئین ها را افزایش دهد. بسیاری از مطالعات پیشنهاد کرده اند که ROS در دژنراسیون نورون های دوپامینرژیک نقش دارد. سطوح بالای پراکسیداسیون لیپید ها، تخلیه گلوپاتین و افزایش اکسیداسیون پروتئین در بافت های مغزی بیماران پارکینسونی دیده می شود. اکسیداسیون دوپامین باعث تشکیل دوپامین کوئینون شده که می تواند مستقیماً پروتئین ها را تغییر دهد. در افراد سالم مکانیسم هایی وجود دارد که سلول ها را از تا خوردگی نامناسب و انباشتگی، محافظت نماید. مثلاً این پروتئین ها توسط سیستم پروتازوم یوبیکوئیتین و لیزوزوم برداشت می شوند و همچنین چاپرون هایی هستند که می توانند این تاخوردگی ها را اصلاح نمایند.

شواهد متعددی نشان می دهند که عملکرد ناقص میتوکندری ها سبب مرگ پروتئین و لیپیدهای غشایی DNA و RNA نورون های دوپامینرژیک در سنین بالا می گردد. اکسیداسیون یکی از عوامل مهم نقص

در عملکرد میتوکندری ها می باشد. اکسیداسیون ساختار بسیاری از آنزیم ها را تغییر داده و از این طریق تمایل آنها را به سوبستراها یا کوانزیم هاشان و همچنین فعالیت آنها را کاهش می دهد. استفاده از سطوح بالای کوفاکتورهای میتوکندریایی و سوبستراهای آنزیم های میتوکندریایی می تواند اثرات پیری را معکوس کند شواهد متعددی نشان می دهد که پارکینسون با نقص عملکرد میتوکندری در ارتباط است:

۱- استریاتوم بیماران پارکینسونی، نقصی را در زنجیره انتقال الکترون کمپلکس میتوکندریایی نشان می

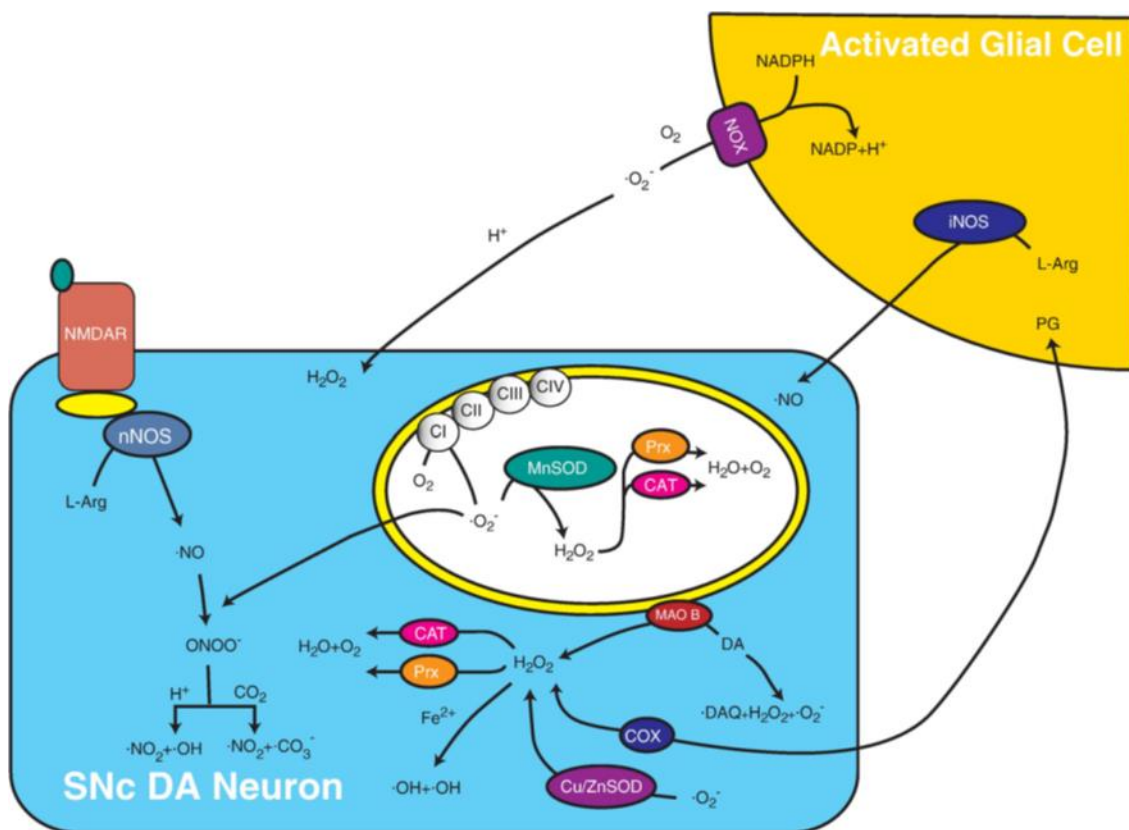
دهد.

۲- مکانیسم عمل سموم MPTP، روتنون و ۶-هیدروکسی دپامین (6-OHDA) که سندرم مشابه

پارکینسون در انسان، در جوندگان ایجاد می کنند، مهار فعالیت کمپلکس میتوکندریایی^۱ عمل می

باشد.

یافته های اخیر پیشنهاد می کند که ورودی های دوپامینرژیک برای ساخت نورون های جدید ضروری هستند و به این دلیل، تخلیه دوپامین در مدل حیوانی پارکینسون به کاهش شدید ساخت سلول های عصبی بالغ می انجامد. به هر حال چگونگی درگیری دوپامین در تولید سلول های عصبی جدید، هنوز شناسایی نشده است. بیماران پارکینسونی کاهش ساخت نورون ها را در هیپوکامپ و پیاز بویایی نشان می دهند و پیشنهاد می کند که تخلیه دوپامین می تواند یک نقش کلیدی در ایجاد نشانه های پارکینسون دارا باشد (۲۳).



شکل ۳. مرگ نورون های دپامینرژیک (DA) توسط استرس اکسیداتیو

نشت الکترون ها از زنجیره های انتقال الکترون در میتوکندری ها بویژه کمپلکس شماره ۱ سبب تولید ملکول سوپراکسید (O_2^-) می شود که خود توسط انزیم سوپراکسید دسموتاز (SOD) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تبدیل می شود. پراکسید هیدروژن توسط انزیم های کاتالاز (CAT) و پراکسی ردوکسین (Prx) به آب و اکسیژن تجزیه می شود. علاوه بر این کاتابولیسم دپامین (DA) توسط انزیم مونوآمینو اکسیداز (MAO) می تواند تولید پراکسید هیدروژن نماید. در شرایط التهاب نورونی، سلول های گلیال فعال میشوند که سبب تولی رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) شده که میتواند به نورون های دپامینرژیک هسته جسم سیاه انتشار یابد. (منبع Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease).



۴ شکل. مسیرهای پاتوژنیک که در مرگ نورون های دپامینرژیک هسته جسم سیاه سهیم می باشند

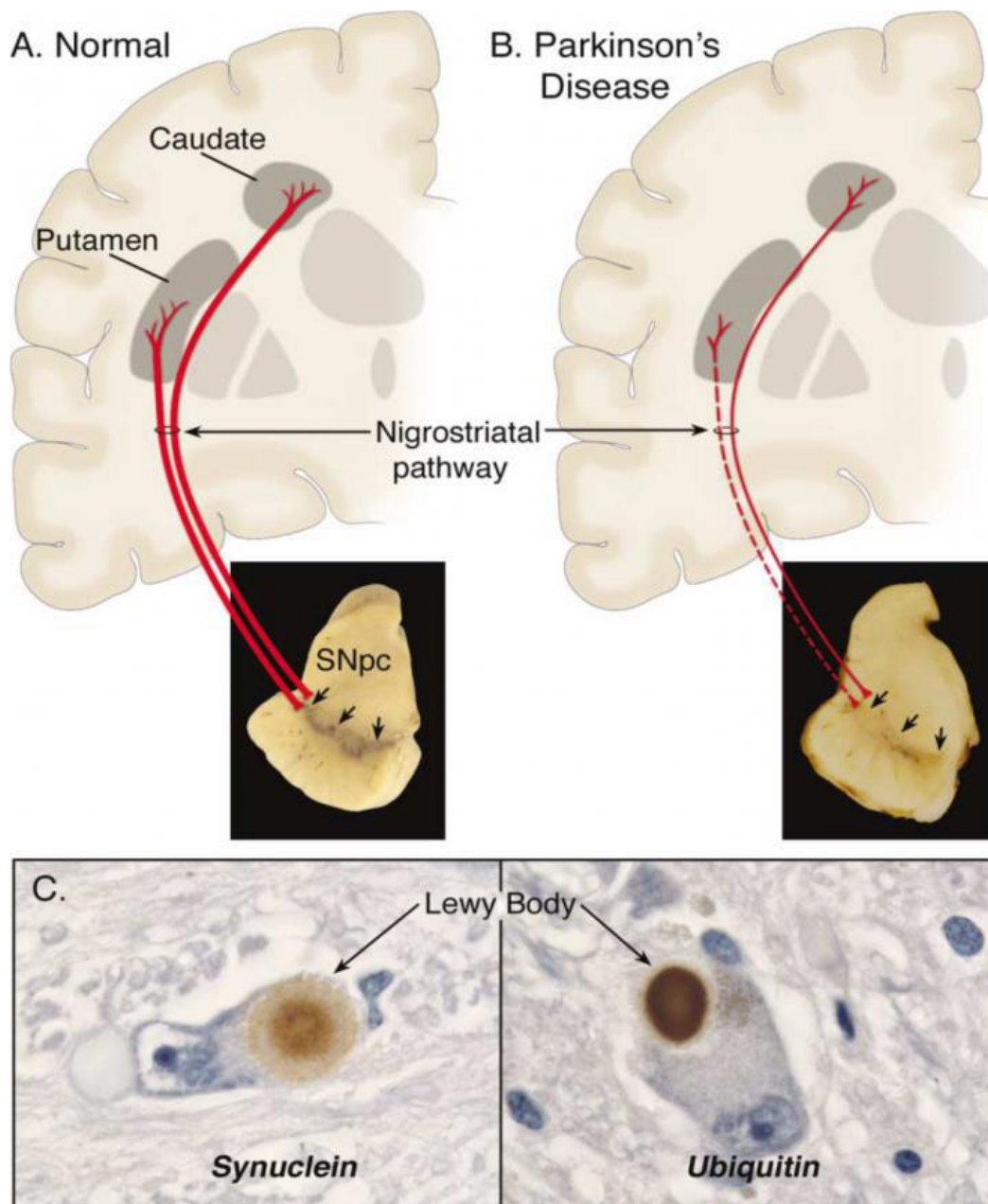
متابولیسم دپامین، التهاب و اکسیتوتوکسیسیته سبب تولید مقادیر زیادی ROS می شوند. عملکرد ناقص سیستم پروتئولیتیک و میتوکندری ها دو مسیر اصلی میباشند که در مرگ نورون های دپامینرژیک SNc دخالت دارند. عملکرد ناقص میتوکندری ها سبب تولید استرساکسیداتیو می شود که خود با آسیب به زنجیره تنفسی میتوکندری ها سبب تولید ROS بیشتر و سیکل معیوب مرگ نورونی می شود. اختلال در عملکرد میتوکندری ها با نقص در تولید ATP سبب اختلال در عملکرد سیستم های انزیمی می شود که سبب تجزیه پروتئین های بد پیچ خورده (misfolded) می شود. به غیر از این عملکرد ناقص میتوکندری ها سبب با تحریک مسیرهای آپوپتوز سبب مرگ نورون ها می شود. از طرف دیگر، سیستم های پروتئولیتیک به عنوان یک سیستم حفاظتی پروتئین های بد پیچ خورده و یا متراکم شده (aggregated) را که برای نورون های دپامینرژیک هسته جسم سیاه سمی می باشند را حذف می نمایند. در شرایط استرس اکسیداتیو، پروتئین های زیادی آسیب می بینند که بیشتر از ظرفیت سیستم پروتئولیتیک می باشند. از این رو، این پروتئین ها تجمع حاصل کرده که می توانند منجر به مرگ نورون های دپامینرژیک هسته جسم سیاه شوند. (منبع Oxidative and nitrosative stress in Parkinson's disease).

نشانه های پاتولوژیک بیماری پارکینسون:

نشانه های پاتولوژیکی بیماری پارکینسون شامل فقدان نورون های دوپامینرژیک مسیر نیکرواستریاتال است. فقدان نورون های دوپامینرژیک در مکان مشخصی رخ می دهد و با الگویی که در پیری دیده می شود، متفاوت است. در پارکینسون فقدان در منطقه دمی و شکمی -جانبی SNc دیده می شود در حالیکه در جریان پیری، منطقه میانی - پشتی تحت تاثیر قرار می گیرد. بنابراین با وجودیکه سن یک ریسک فاکتور مهم برای بیماری پارکینسون است، فرایندی که مرگ نورون های دوپامینرژیک وابسته به سن را ایجاد می کند، با پارکینسون متفاوت است^{۱۶}

در جریان این بیماری پایانه های عصبی در استریاتوم بیشتر از نورون های دوپامینرژیک SNc از بین می روند بنابراین پیشنهاد می شود که پایانه های عصبی استریاتوم، هدف اولیه فرایند دژنراسیون است و مرگ نورون های SNc احتمالا متعاقب آسیب استریاتوم رخ می دهد^{۱۶ و ۲۱}

در جسم سیاه بیماران مبتلا به پارکینسون انکلوزیونهای درون سیتوپلاسمی به نام اجسام لوی (lewy bodies) ظاهر می شود. این اجسام میتواند بر اثر تاخوردگی نادرست و انباشتگی پروتئین- α synuclein یا poly-ubiquitin ایجاد شوند (شکل ۵).



شکل ۵. نمای پاتولوژیک مغز بیماران پارکینسونی.

در بیماری پارکینسون مسیر دپامینرژیک نیگرواستریاتال تخریب می شود (B). همچنین در بخش متراکم هسته جسم سیاه این بیماران اجسام متراکمی به نام اجسام لوی مشاهده میشود (C).

درمان بیماری پارکینسون

در حال حاضر درمان شناخته شده ای برای این بیماری وجود ندارد با وجود این علائم آن می تواند بوسیله درمان های دارویی کنترل شود. درمان با L-DOPA مدتهاست که مورد استفاده قرار می گیرد و استاندارد طلایی برای آن می باشد. با وجود این کارایی این درمان با مرور زمان کاهش می یابد و اغلب اختلال در اعمال حرکتی و واکنش های سایکوتیک و دیس کینزیا ظاهر می شوند. اگونیست های دپامین، مهار کننده های انزیم های مونوآمینواکسیداز و کاتکول او متیل ترانسفراز و آمانتادین دارای اثرات سودمندی در بیماران می باشند ولی اغلب یا در مراحل اولیه بیماری استفاده می شوند و یا به منظور درمان کمکی با L-DOPA مورد استفاده قرار می گیرند. به دلیل این محدودیت ها توسعه داروهای ضد پارکینسونی بهتر یک هدف عمده در تحقیقات بیماری پارکینسون می باشد^{۳۸}.

علاوه بر درمان های دارویی، درمان های دیگر نیز متداول می باشند. یکی از مهمترین استراتژی های درمانی پیوند بافت های دپامینرژیک می باشد. معکوس شدن نارسایی های حرکتی و بیوشیمیایی در مدل های حیوانی بیماری پارکینسون بوسیله پیوند نشان داده شده است. عمومی ترین روش در پیوند قرار دادن سلول های اکثوپیک سوسپان شده از بافت های مزانسفالیک شکمی (VM) جنینی در کورپوس استریاتوم بدون عصب می باشد. این می تواند بسیاری از اثرات رفتاری آسیب را کاهش داده و یا حتی معکوس نماید. با وجود این هیچکدام از استراتژی های پیوند که تا به امروز از موده شده است منجر به بازسازی کامل مسیر نیگرواستریاتال نشده است. روش درمانی دیگر استفاده از عوامل رشد و نوروتروفیک را درگیر می نماید. نشان داده شده است که Glial-cell-line neurotrophic factor (GDNF) یک فاکتور نوروتروفیک قوی برای نورون های دپامینرژیک نیگرا ل بزرگسال می باشد. این فاکتور دارای اثرات پروتکتیو و احیاءگر بر سیستم

دپامینرژیک نیگرواستریاتال در مدل حیوانی می باشد. کاربرد مناسب این عامل برای موفقیت در درمان

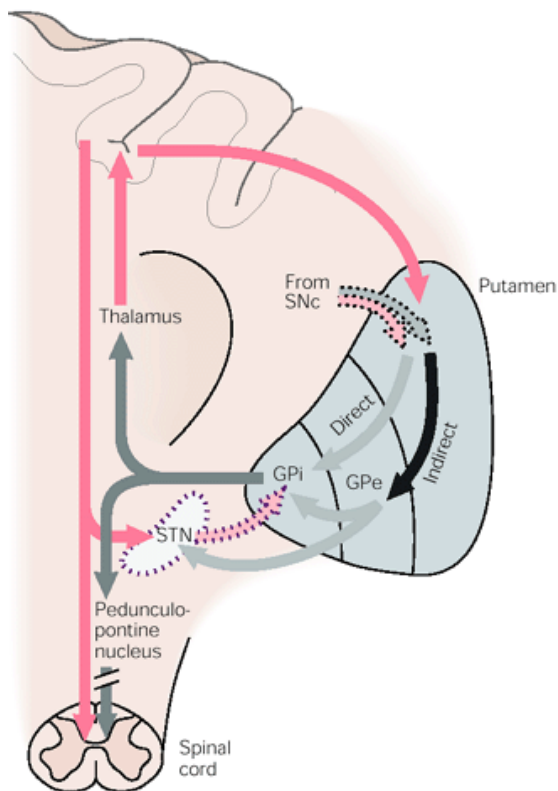
کلینیکی آن اساسی می باشد^{۳۵،۳۳،۲۷،۲۶،۲۱،۱۳،۸،۳،۴}.

همچنین افزایش فعالیت هسته ساب تالاموس نقش اساسی در پاتوفیزیولوژی بیماری پارکینسون ایفا می

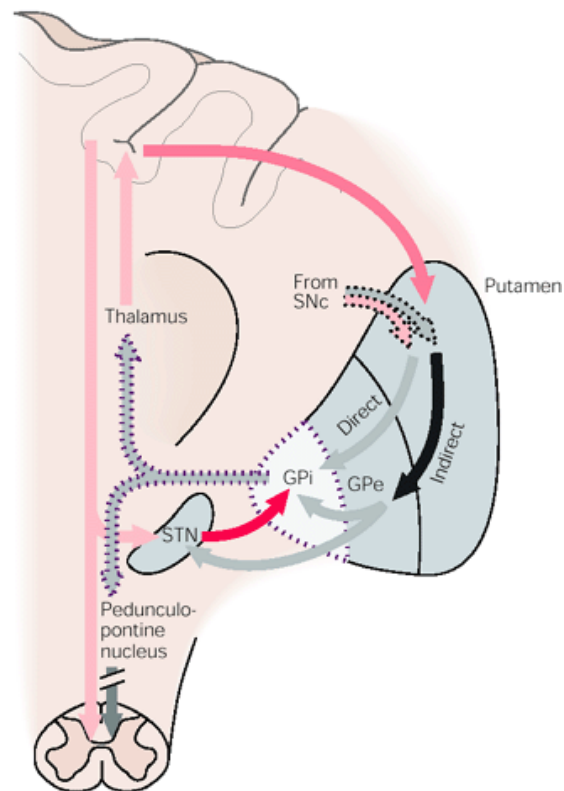
نماید. آسیب به این هسته علائم پارکینسونیسم را در جواندگان کاهش می دهد. تحریک با فرکانس بالای

هسته ساب تالاموس علائم حرکتی پارکینسونیسم را برطرف می نماید^{۱۶} (شکل ۶).

TN lesion



GPI lesion



شکل ۶. مکان های مداخله جراحی برای درمان بیماری پارکینسون

تخریب هسته ساب تالاموس (شکل سمت چپ) و یا بخش داخلی هسته گلوبوس پالیدوس (شکل سمت راست) سبب کاهش قابل ملاحظه علائم بیماری پارکینسون می شود. GPe: بخش خارجی هسته گلوبوس پالیدوس، GPi: بخش داخلی هسته گلوبوس پالیدوس، STN: هسته ساب تالاموس و SNc: بخش متراکم هسته جسم سیاه.

مدلهای حیوانی

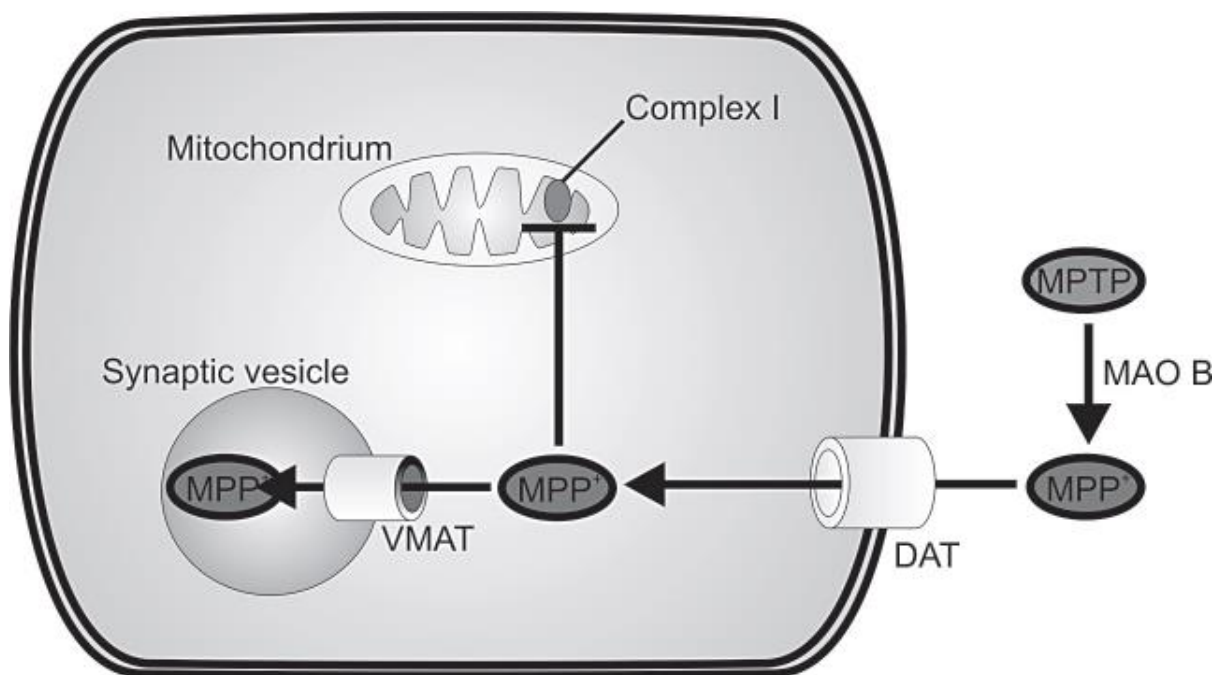
به منظور درک پاتوفیزیولوژی این بیماری و گسترش روشهای نوین درمان، لازم است که مدل‌های حیوانی برای این بیماری ایجاد گردند که در آنها عوامل فارماکولوژیک جدید و استراتژیهای درمانی قبل از کاربردهای کلینیکی مورد ارزیابی قرار گیرند. چندین مدل حیوانی برای این بیماری ایجاد شده است که برخی از آنها دستکاریهای ژنتیکی و برخی استفاده از سموم خاص را برای ایجاد این بیماری در گیر می

نمایند. سه مدل حیوانی از مواد شیمیایی نورو تاکسیک برای آسیب به سیستم دپامینرژیک استفاده می نمایند. در یک مدل از نورو توکسین ۱-methyl-۴-phenyl-۱,۲,۳,۶ tetrahydropyridine (MPTP) برای ایجاد پارکینسونیسم در پرماتها و موش استفاده می شود. پس از تزریق سیستمیک، MPTP بسرعت از سد خونی مغزی عبور کرده و وارد مغز می شود. در انجا در چندین مرحله که انزیم مونوآمینوآکسیداز B را درگیر می می نماید متابولیزه شده و در نهایت به نورو توکسین فعال MPP^{+} تبدیل می گردد. سپس این ترکیب به روشهای حاد و مزمن سبب اپوپتوز نورونهای دپامینرژیک در استریاتوم گردیده و علائم شبه پارکینسونی را القاء می نماید (شکل ۷). مدل دیگر تزریق سیستمیک روتنون (rotenone) در جوندگان را شامل می شود. روتنون یک ترکیب لیپوفیل می باشد که از ریشه برخی گیاهان (Derris species) بدست می آید و جزء اصلی بسیاری از حشره کش ها می باشد. این ترکیب مهار کننده اختصاصی کمپلکس میتوکندریایی I در غشاء داخلی میتوکندریها می باشد و نشان داده شده است که در معرض قرار گرفتن مزمن به آن سبب دژنراسیون سیستم دپامینرژیک نیگرواستریاتال و ظهور علائم پارکینسون می شود. یک تفاوت روتنون با MPTP در این است که روتنون سبب نقص در کمپلکس میتوکندریایی I بصورت سیستمیک می نماید در حالیکه MPTP برای نورونهای دپامینرژیک انتخابی می باشد. جوندگان مانند موش صحرایی و موش سوری حساسیت کمتری نسبت به پرماتها به MPTP دارا می باشند. در این حیوانات از مدل سوم که تزریق یکطرفه ۶-OHDA را به ماده سیاه مغز جوندگان شامل می شود، استفاده می شود. ۶-OHDA آنالوگ هیدروکسیله دپامین که یک نوروترانسمیتر طبیعی در مغز می باشد، است. در مقایسه ای که بر روی این سه مدل بر روی موش صحرایی صورت گرفته است، مدل ۶-OHDA موثرترین مدل برای تولید مدل پارکینسونی شناخته شده است. ۶-OHDA بسیار ناپایدار بوده و به آسانی اکسیده شده و تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن (ROS) می نماید که می تواند سبب مرگ نورونهای دپامینرژیک از طریق اپوپتوزیس گردد. در محیط خارج از بدن (in vitro) ۶-OHDA از دپامین حاصل

می شود ولی در محیط داخل بدن (in vivo) چنین عملی رخ نمی دهد. بدلیل آنکه 6-OHDA یک نوروتوکسین بوده که بطور اختصاصی نورونهای دپامینرژیک را در in vivo تخریب می نماید، از این ترکیب به طور گسترده ای برای ایجاد همی پارکینسونیسم در موشهای صحرایی استفاده می شود. این ترکیب از سد خونی مغزی عبور نکرده و می بایستی بطریقه جراحی استریوتاکسیک به درون مغز تزریق گردد. در این مدل اجسام لوی ایجاد نمی شوند^{۳،۴،۱۲،۱۷،۱۹،۲۰،۲۲،۲۵،۲۹،۳۱،۳۲،۳۴،۳۸}.

دو مدل برای تزریق 6-OHDA وجود دارد: روش اول و رایج تر شامل تزریق یکطرفه 6-OHDA به ماده سیاه است که به مرگ سلولی سریع در عرض ۱-۳ روز منجر می شود. روش دیگر تزریق مستقیم سم به استریاتوم است که به در عرض ۴ هفته سبب تخریب نورون های دپامینرژیک جسم سیاه می شود (۴۳) پایان نامه فریدونی).

برای جراحی های استریو تاکسیک، این سم بصورت یک طرفه تزریق می شود. متعاقب تزریق، رفتار چرخشی یکطرفه در حیوان ایجاد می شود که مقدار آن به میزان آسیب بستگی دارد. در موش صحرایی وسعت تخلیه دوپامین می تواند با آزمون رفتاری چرخش القایی توسط آپومورفین سنجیده شود (آپومورفین آگونیست رسپتور دوپامین است). میزان آسیب یکطرفه را می توان اندازه گیری کرد و یکی از فواید این مدل این است که می توان از طریق آن تاثیر داروهای جدید ضد پارکینسون را بررسی نمود.



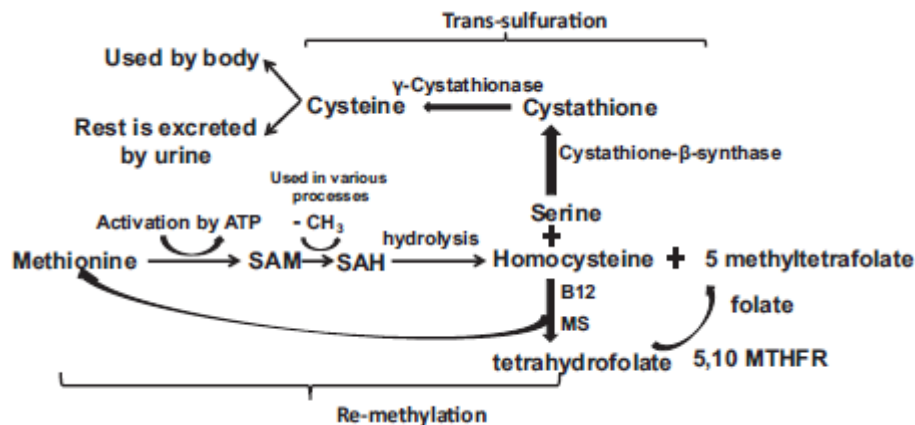
شکل ۷. مکانیسم آسیب زایی سم MPTP.

پس از ورود به مغز MPTP توسط آنزیم مونوآمینواکسیداز B (MAO B) به شکل فعال MPP^+ تبدیل شده و از طریق ناقلین دپامین (DAT) وارد نورون های دپامینرژیک شده و در میتوکندری این سلول ها انباشته میشود. درانجا با مهار کمپلکس I زنجیره تنفسی میتوکندریایی باعث مرگ نورون ها میشود.

هموسیستئین

متیونین یک آمینواسید سازنده ی پروتئین است که از طریق رژیم غذایی وارد بدن میشود و درستتر پروتئین های مهمی شرکت میکند. هم چنین متیونین به عنوان پیش ساز هموسیستئین عمل میکند. هموسیستئین (Hcy) و متیونین، هر دو در باقی ماندن ترکیب مناسب پروتئین ها در بدن فعالیت میکنند. برای تأمین Hcy مورد نیاز بدن، متیونین از طریق ATP به S-آدنوزیل متیونین (SAM) تبدیل میشود. SAM در سلول یک دهنده ی بزرگ گروه متیل است و بعد از انتقال گروه متیل، به S-آدنوزیل هموسیستئین که به هموسیستئین تبدیل میشود، مبدل میگردد. ۲ مسیرری متیلاسیون و ترانس سولفوراسیون، سطح متیونین و هموسیستئین را در بدن متعادل میسازند. در مسیرری متیلاسیون، با متیلاسیون مجدد هموسیستئین، این آمینواسید به متیونین تبدیل میشود. در زمانی که مقدار متیونین فراوان باشد، Hcy ناگزیر در مسیر ترانس سولفوراسیون با سرین ترکیب شده و با کمک آنزیم سیستاتینونین بتا-سنتاز، تشکیل سیستاتینونین را میدهد. در ادامه با عمل آنزیم گاما-سیستاتینوناز بر روی سیستاتینونین، سیستئین تشکیل میشود که درستتر پروتئین شبه گلو تاتیون استفاده میشود و مقادیری استفاده ی آن نیز از طریق ادرار دفع میگردد. (شکل ۸)

ویتامین ها نقش مهمی در سیکل متیونین و هموسیستئین ایفا میکنند. ویتامین B_{۱۲} و فولیک اسید به عنوان کوفاکتور در ریمتیلاسیون هموسیستئین به متیونین و ویتامین B_۶ به عنوان کوفاکتور در پروسه ی ترانس سولفوراسیون نیاز هستند.



۸ شکل ۸. نمای شماتیک متابولیسم هموسیستئین.

هموسیستئین یک آمینواسید حاوی سولفور و همولوگ آمینواسید سیستئین می باشد. L-هموسیستئین یک آمینواسید اندوژن است و شامل یک گروه تیول آزاد است که در سلولهای سالم در سنتز متونین و سیستئین به کار میرود. بخش زیادی از Hcy که به پروتئین متصل نیست، اکسید شده و شکل دimer آن یعنی هموسیستین به وجود می آید. هم چنین، به صورت غیر مستقیم، هموسیستئین در متابولیسم متیل، فولات و تیول سلولی شرکت دارد (D'Angelo & Selhub ۱۹۹۷).

حدود ۸۰ درصد از سطح کلی هموسیستئین پلاسما به صورت متصل شده با پروتئین هاست و مقدار کمی به صورت احیاء شده ی آزاد وجود دارد ($0.1 \mu M$).

استرس اکسیداتیو از طریق اکسیداسیون گروه تیول آزاد هموسیستئین ایجاد میشود، زمانی که Hcy با یک پل دی سولفید به پروتئین های پلاسما خصوصاً آلبومین یا قسمت تیول مولکول های کم وزن دیگر پلاسما یا یک مولکول Hcy دوم متصل میشود.

اکسیداسیون Hcy باعث اکسیداسیون متعاقبی پروتئین ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلئیک سلول میشود. (Zou, Banerjee, ۲۰۰۵). تجمع مولکولهای اکسیدشده در عملکرد بیولوژیکی بسیاری از مسیرهای سلولی اختلال ایجاد میکند.

در مکانیسم آسیب زایی دوم هموسیستئین باید گفت که، ۲ نوع اصلی از هموسیستئینیلایون وجود دارد: S-هموسیستئینیلایون و N-هموسیستئینیلایون. که هر دو میتوانند عاملی در تغییر پروتئین های پس ترجمه ای باشند. S-هموسیستئینیلایون زمانی است که Hcy از طریق گروه تیول آزادش بادیگرتیول های آزاد مشتق شده از سیستئین موجود در یک مولکول پروتئین واکنش میدهد.

(Jakubowski ۲۰۰۴, sengupta et al ۲۰۰۱)

N-هموسیستئینیلایون مکانهای بعد آسیلاسیون گروههای ϵ -آمینولیزین آزاد از پروتئین را توسط واکنش پذیرترین شکل Hcy (تیواستر حلقوی-HTL) رامیگیرد.

در خون انسان پروتئین های S,N هموسیستئینیل شده ای مثل Hcy-N هموگلوبین و Hcy-S-S-N-Cys آلبومین و Hcy-S آلبومین وجود دارند. مسیرهای دیگری از سمیت زیستی Hcy مثل آپوپتوز و سمیت تحریکی به وسیله ی گیرنده های گلو تامات وجود دارد. (جدول ۱)

سنتز هموسیستئین تیولاکتون (HTL) با فعالیت آمینواسید و توسط آمینواسیل-tRNA سنتتاز (AARS) در ارتباط است. هموسیستئین ممکنه به اشتباه و توسط آنزیم متونیل-tRNA سنتتاز به سمت هموسیستئینیل-آدنیلات پیش رود. در مرحله ی بعد گروه تیول زنجیره ی جانبی Hcy با گروه کربوکسیل فعال شده واکنش داده و HTL تولید میشود. سطح HTL سنتتاز در کشتهای سلولی به Hcy و متیونین وابسته است. همچنین HTL هیدرولیز میشود از طریق غیر آنزیمی و هم از طریق آنزیم هموسیستئین تیولاکتون هیدرولاز پلازما

و هموسیستئین تیولاکتوناز یا پاراکسوناز (PON 1). Hcy تیولاکتون حدود ۰,۲۹ درصد از Hcy کلی پلاسما را تشکیل می‌دهد.

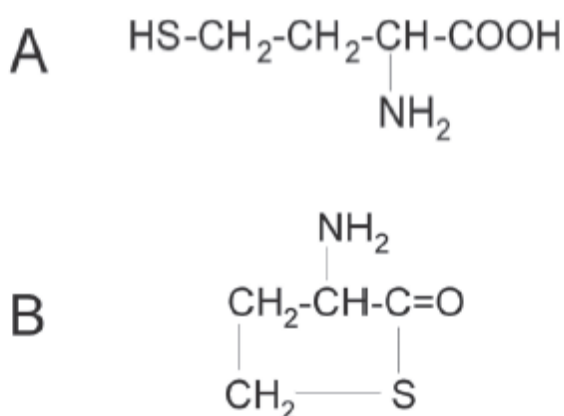


Figure 1. The chemical structure of homocysteine (A) and its thiolactone (B).

۹ شکل ۹: ساختار شیمیایی هموسیستئین.

The form of Hcy	The concentration in human blood
Homocysteine thiolactone (HTL)	0-35 nM
Protein N-linked homocysteine: N-Hcy-hemoglobin, N-(Hcy-S-S-Cys)-albumin	about 15.5 μM: 12.7 μM, 2.8 μM
Protein S-linked homocysteine — S-Hcy-albumin	about 7.3 μM*
Homocysteine (Hcy-S-S-Hcy) and combined with cysteine to form mixed disulphides (Hcy-S-S-Cys)	about 2 μM*
Free reduced Hcy	about 0.1 μM*

جدول ۱: غلظت اشکال مختلف هموسیستئین در خون انسان

پیش از این بیان شد که SAM بزرگترین دهنده ی متیل در سلول میباشد. گروههای متیل مشتق شده از این ماده در ساخت ترکیباتی مثل کراتین، فسفاتیدیل کولین و نوروترانسمیترها استفاده میشود. فرآیند متیلاسیون ایجاد شده از این ماده در تنظیم بیان ژن هانیز موثر است. از تمامی واکنش های ترانس متیلاسیون انجام شده توسط SAM، ماده ای با عنوان S-آدنوزیل هموسیستئین SAH، تولید میشود که یک مهارکننده ی قوی آنزیم های متیل ترانسفراز میباشد. به گونه ای که نسبت SAM به SAH معیاری برای توانایی سلول در ترانس متیلاسیون در نظر گرفته میشود.

اگرچه واکنش ترانس متیلاسیون در بسیاری از بافتها وجود دارد. کمپلکس های آنزیمی دخیل در متابولیسم هموسیستئین و گروه متیل معمولاً اختصاصی بافت است و بیشترین فعالیت را در کبد دارا میباشد. دریافت کلیه، همچنین آنزیم های متعددی در حفظ تعادل Hcy دخیل هستند از جمله بتائین-S-Hcy متیل ترانسفراز (BHMT)، سیستاتیونین بتاستاز (CBS) و گلايسين N-متیل ترانسفراز (GNMT). سلولها ی دیگر بافتهای بدن نیز میتوانند ایزو فرم های دیگر این آنزیم ها را تولید کنند.

CBS مقادیر اضافی هموسیستئین و سرین را در یک واکنش وابسته به ویتامین B₆ به سیستاتیونین تبدیل میکند. هم چنین در واکنش ترانس سولفوراسیون که وابسته به B₆ است، توسط آنزیم سیستاتیونین گاما لیااز، سیستئین و آلفا کتوبوتیرات تولید میشود.

در بیماران هموسیستئینوریا..... نقص ژنتیکی در CBS و یا سیستاتیونین γ-لیاز باعث بالا رفتن غلظت هموسیستئین در خون و ادرار میشود.

ری متیلاسیون هموسیستئین برای تبدیل شدن به متیونین:

۲ مسیر اصلی دارد. در واکنش ۱:

این واکنش وابسته به فولات و ویتامین B₁₂ است و کوآنزیم ۵-متیل تتراهیدروفولات با کمک آنزیم متیونین سنتاز وابسته به B₁₂، یک گروه متیل به مولکول هموسیستئین میدهد. ادامه یافتن این واکنش بستگی به احیاء مولکول ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات دارد که توسط MTHFR انجام میگیرد.

بنابراین پلی مورفیسم نوکلئوتید منفرد ژن MTHFR (C⁶⁷⁷T) باعث کاهش ریمتیلاسیون وابسته به فولات شده و غلظت Hcy را افزایش میدهد.

واکنش ۲:

در شرایط کمبود فولات و منبع ۱-کربن، با استفاده از بتائین مشتق شده از اکسیداسیون کولین، گروه متیل جابه جامی شود که این واکنش توسط BHMT کاتالیز میشود. این واکنش دریافت کبد و کلیه انجام میشود. در صورتی که واکنش ۱ در اکثر بافتها صورت میگیرد.

تنظیم میزان هموسیستئین:

۱. تولید آنزیم های PEMP و GAMT از متیل ترانسفرازهای وابسته به مولکول SAM هستند که باعث تولید هموسیستئین میشوند. GAMT آنزیم کبدی است که با انتقال متیل به مولکول گوانیدین -O- استات (ماده ی تولید شده از آرژینین و گلیسین دریافت کلیوی) باعث تولید کراتین میشود. کراتین برای ساخت کراتین فسفات مورد نیاز عضله گروه های متیل زیادی را مصرف میکند و بنابراین باعث تولید مقادیر زیادی هموسیستئین در کبد میشود. Steal et al ثابت کردند که تأمین غذایی کراتین باعث کاهش تولید این ماده در کبد شده و به دنبال آن تولید Hcy نیز کاهش میابد. البته در صورتی که گوانیدین -O- استات در غذا بالا باشد، با متیله شدن آن به کراتین، مقدار Hcy بالا میرود.

همچنین درستزفسفاتیدیل کولین از کولین، آنزیم PEMT در کبد به عنوان یک مسیر فرعی برای تولید فسفاتیدیل کولین از فسفاتیدیل اتانول آمین استفاده میکند. در این مسیر زیستی از ۳ گروه متیل استفاده میشود، که بیان شده که PEMT بزرگترین مصرف کننده ی گروه متیل مشتق از SAM و تولید Hcy میباشد. (Vance et al)

و نیز ثابت شده که بیان آنزیم PEMT کبدی توسط استروژن تنظیم میشود، بنابراین سن و جنس فاکتور های دخیل در عملکرد PEMT و تعادل Hcy میباشد.

۲. تجزیه: کاتابولیسم غیر قابل برگشت Hcy توسط فعالیت CBS و ۷-سیستاتینوناز برای تولید سیستئین به طور وسیعی در کبد و کلیه ها و به طور کمتری در دیگر بافت های بدن انجام میشود.

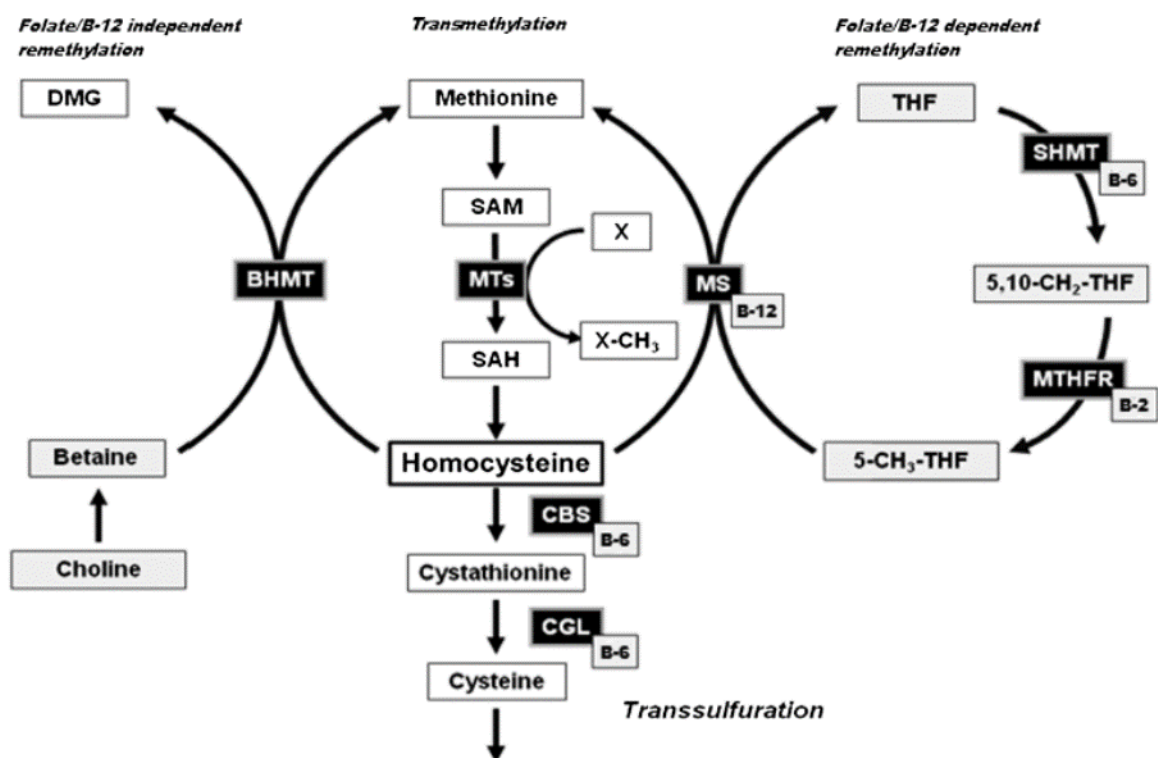
نقص های متابولیکی در آنزیم های وابسته به B_۶ در بیماری هموسیستینوریا و موارد بیماری های قلبی وابسته به افزایش Hcy دیده شده است.

۳. ری متیلاسیون: این واکنش وابسته به فولات در کبد توسط آنزیم MS و MTHFR انجام میشود.

مدل های حیوانی MTHFR و MS به عنوان ابزار مفیدی در تنظیم هیپر هموسیستینمیای مرتبط با اختلالات عروقی استفاده شده است.

برای ری متیلاسیون غیر وابسته به فولات، بیان و تنظیم آنزیم BHMT بر غلظت های Hcy موثر بوده است. استفاده از یک مهر کننده ی قوی این آنزیم مثل α -S کربوکسی بوتیل -DL-هموسیستئین، باعث کاهش ۹۰٪ فعالیت آنزیم مذکور شده و غلظت های Hcy را تا ۷ برابر نرمال بالا برده است. از آنجایی که مهار کننده ی استفاده شده بر دیگر آنزیم ها اثر ندارد، ثابت شد که مهار BHMT به تنهایی برای عدم تعادل Hcy کافی است. در مدل های

موشی ایجاد شده با کمبود BHMT میزان استئاتوز کبدی و سرطان سلول های کبدی نیز افزایش نشان داده است. (شکل ۱۰)



۱۰ شکل: متابولیسم فولات کبدی، گروه متیل و هموسیستئین.

متیل ترانسفرازهای وابسته به SAM شامل گلیسین متیل ترانسفراز (GNMT)، گوانیدین-*o*-استات-N-متیل ترانسفراز (GAMT)، فسفاتیدیل اتانول آمین-N-متیل ترانسفراز (PEMT). این سه آنزیم باعث تبدیل گلیسین به سارکوزین، گوانیدین استات به کراتین و فسفاتیدیل اتانول آمین به فسفاتیدیل کولین میشوند. علاوه بر فولات، این واکنش ها به ریپوفلاوین B_۶، B_{۱۲} وابسته هستند.

متابولیتها و آنزیم ها: BHMT، بتاهموسیستئین S-متیل ترانسفراز..... CBS، سیستاتئونین بتاستاز.... CGL، سیستاتئونین گامالیاز..... DMG، دی متیل گلايسين.... MS، متیونین سنتاز.... MTs، متیل ترانسفرازها.... MTHFR، ۵ و ۱۰ متیلن تتراهیدروفولات ردوكتاز.... SAH، S-آدنوزیل هموسیستئین SAM، S-آدنوزیل متیونین.... SHMT، سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز.... X، پذیرنده ی متیل.

فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در تعادل هموسیستئین در بدن دارند. تظاهرات کلینیکی مثل عقب افتادگی ذهنی، تشنج، ترومبوآمبولی، در ارتباط با فرم هموزیگوت ژن CBS، در افرادی که سطح خونی هموسیستئین بالاتر از ۲۰۰ میکرومول در لیتر دارند، دیده شده است. فرم های هتروزیگوت این ژن باعث افزایش هموسیستئین تا سطح ۳۰-۲۰ میکرومول در لیتر، با افزایش ریسک آترواسکلروز اولیه میشود.

واریان G^{۹۱۹}A ژن آنزیم CBS با افزایش شیوع هموسیستینوریاد ارتباط است.

نقص هموزیگوت N^{۱۰}، N^۰ متیلن تتراهیدروفولات نادر است اما در صورت بروز باعث سطوح بسیار بالای هموسیستئین و مرگ زودرس میشود. موتاسیون C^{۶۷۷}T در MTHFR (آنزیم تبدیل کننده ی ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات به ۵-متیل تتراهیدروفولات که شکل غالب گردش خونی فولات است) باعث کاهش فعالیت آنزیم مذکور و به دنبال آن کاهش غلظت فولات در سرم، پلاسما و RBC ها و افزایش غلظت کلی هموسیستئین شده است.

واریان C^{۷۷۶}G پروتئین انتقال دهنده ی B_{۱۲} (ترانس کوبالامین)، با کاهش تحویل بافتی B_{۱۲}، بر سطح Hcy پلاسما تأثیر داشته است.

سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز، آنزیمی است که سرین و تتراهیدروفولات را به گلايسين و متیلن تتراهیدروفولات تبدیل میکند. واریان های پلی مورفیسم C^{۱۴۲۰}T و T^{۱۴۲۰}A این آنزیم باعث افزایش معنی داری در سطوح Hcy شده است.

متیونین سنتاز که درری متیلاسیون Hcy دریک واکنش وابسته به کوپالامین از ۵ و ۱۰-متیلن تتراهیدروفولات به عنوان دهنده ی گروه متیل استفاده میکند، درپلی مورفیسیم های $A^{2756}G$ و $G^{2756}G$ اش باعث افزایش سطح هموسیستئین شده است.

مکانیسم آسیب زایی هموسیستئین:

افزایش استرس اکسیداتیو، واکنش های التهابی و کاهش در فراهم زیستی اکسیدنیتریک، بیشترین آثار زیان بار Hcy میباشد.

Hcy استرس اکسیداتیو را از طریق ایجاد رادیکالهای آزاد و مهار گلوپروتئین پراکسیداز، افزایش میدهد. Hcy با کاهش فعالیت آنتی اکسیدانهایی مثل گلوپروتئین و احتمالاً به دنبال آن افزایش SAH باعث تشدید استرس اکسیداتیو میشود. همچنین Hcy با پروتئین هایی که توانایی القاء استرس اکسیداتیو را دارند، مانند میثوژن آنتی اکسیدانهایی مثل vit E میتواند اثر القائی هموسیستئین را کاهش دهد.

دستگاه عصبی مرکزی به اختلال تعادل اکسیداتیو بسیار آسیب پذیر است. در این شرایط مصرف O_2 خود و غلظت های لیپید و آهن را افزایش میدهد و به طور وابسته به آن فعالیت دفاعی آنتی اکسیدانها پایین میگردد که باعث عملکرد نوروپاتی مختل به دنبال استرس اکسیداتیو و القاء شده با غلظت بالای Hcy میباشد.

رادیکالهای آزاد تولید شده میتوانند به طور مستقیم باعث اختلال عملکرد اندوتلیال شوند. در پاسخ به سطح بالای Hcy، سلولهای اندوتلیال NO تولید میکنند برای کمک به تشکیل S-نیترسو هموسیستئین که یک اثر حفاظتی علیه اثرات مضر هموسیستئین ایفا میکند.

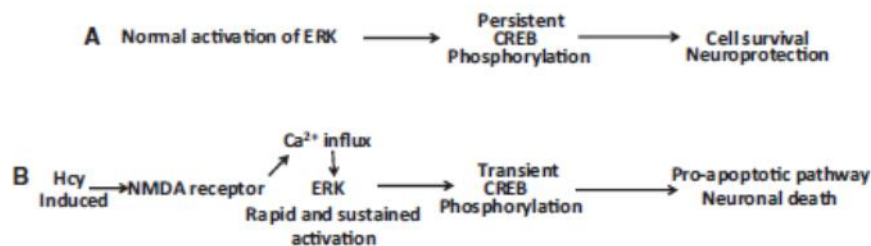
باتماس مزمن اندوتلیال با Hcy، تولید NO کاهش میابد و به سمت حذف می‌رود که باعث تحریک تکثیر سلولهای عضله ی صاف عروق شده و انقباض عروق، افزایش فعالیت و در نهایت چسبندگی لکوسیتها و پلاکتها میشود.

اثرات مستقیم گفته شده در بالا، باعث شروع افزایش در سطوح resistin، پروتئین واکنشی C و سیستئینیل لکوترین هامیشود که مارکهای مهم التهابی هستند. همچنین باعث افزایش در سطوح کلسترول و تری گلیسیرید و LDL و فعالیت HMG-CoA ردوکتاز شده که بیماریهای قلبی عروقی را افزایش میدهد.

یک سری اطلاعات فارماکولوژیک نشان داده اند که Hcy گیرنده ی NMDA را تحریک میکند. این گیرنده، یک گیرنده ی گلوتمات است که باعث باز شدن کانالهای یونی و عبور Na^+ و Ca^{2+} به داخل سلول و K^+ به خارج سلول را میدهد.

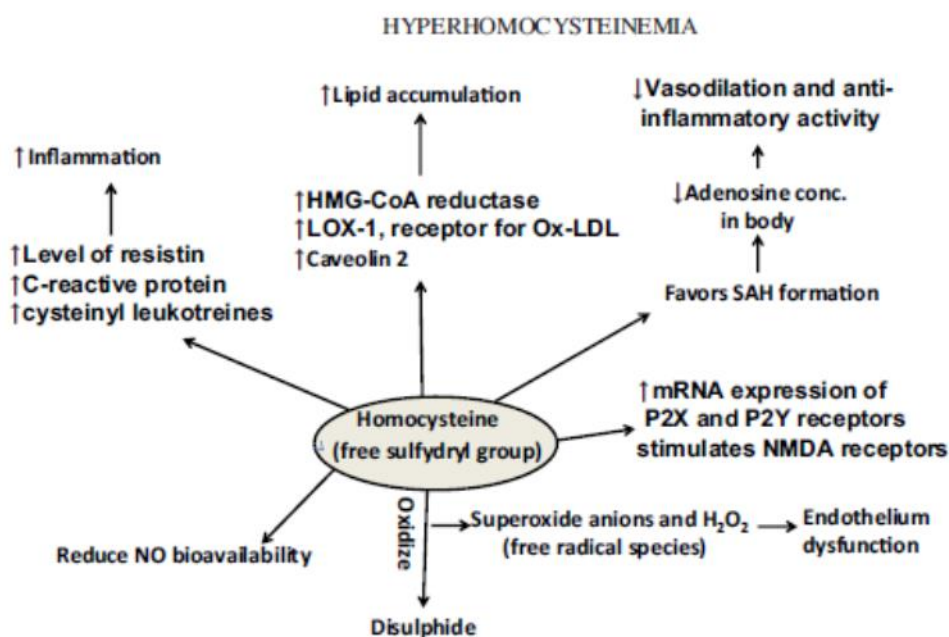
به محض فعالیت Hcy، گیرنده های NMDA جریان یون کلسیم را افزایش میدهند که باعث فسفریلاسیون سریع و تقویت شده ی MAP کیناز و هم چنین فسفریلاسیون گذرای پروتئین CREB (cAMP response element-binding) است که به سمت افزایش استرس اکسیداتیو و نهایتا مرگ نوروئی می‌رود.

در شرایط معمول فعالیت پایدار CREB به عنوان یک عامل حفظ کننده برای سلولها میباشد. اما در مورد فعالیت گذرای CREB، که هموسیستئین با ایجاد فعالیت تقویت شده ی کینازهای تنظیم کننده ی سیگنال خارج سلولی (ERK) باعث آن میشود، اثبات میکند که هموسیستئین یک حلقه ی خودتنظیمی منفی را آغاز کرده که باعث فعالیت زیاد ERK و دفسفریلاسیون CREB شده و به مرگ نوروئی می انجامد. (شکل ۱۱)



شکل ۱۱: نمایش شماتیک فعالیت ERK/تقاء شده با Hcy

(A): در شرایط عادی فعالیت پایدار CREB به عنوان یک عامل حفظ کننده برای سلول عمل میکند. (B) در اثر فعالیت Hcy، گیرنده های NMDA و رودیون کلسیم را افزایش داده که باعث فسفریلاسیون سریع و پایدار MAP کیناز و فسفریلاسیون گذرای CREB میشود، که باعث افزایش استرس اکسیداتیو و مرگ نورونی نهایی میشود.



شکل ۱۲: نمایش شماتیک آسیب زایی هموسیستئین.

Hcy با ایجاد رادیکالهای آزاد و مهار گلوکوتاتیون پراکسیداز، استرس اکسیداتیو را افزایش میدهد. اثر مستقیم Hcy روی گیرنده های جفت شده با پروتئین G، آشناری از واکنش ها را ایجاد میکند.

که باعث افزایش سطح ریسستین، CRP و سیستئینیل لکوترین هامیشود. هیپرهموسیستئینمی بیان گیرنده ی P_{۲۵} و کاونولین را افزایش میدهد که نقش مهمی در ایجاد آترواسکلروز دارند.

هیپر هموسیستئینمی و بیماریها:

هیپرهموسیستئینمی (HHcy) به شرایطی اطلاق میشود که سطح هموسیستئین در بدن بالا باشد. سطوح بالای هموسیستئین به عوامل زیادی از جمله سن، ژنتیک، سبک زندگی و جنس بستگی دارد.

زنهای سطح پایین تری از هموسیستئین را در مقایسه با مردان دارا میباشند ولی در فزایستگی در زنان نیز غلظت آن افزایش میابد. افرادی که رژیم های صرف سبزیجات استفاده میکنند و دچار کمبود ویتامینهای B_{۱۲} و B_۶ و فولیک اسید میشوند، سطوح بالایی از Hcy را دارا میباشند.

HHcy در حدود ۵٪ از افراد جامعه دیده شده است و با افزایش ریسک بسیاری از بیماری ها از جمله:

بیماریهای عروقی، نورودژنراتیو، خودایمنی، نقص های بدو تولد، دیابت، بیماری های کلیوی، استئوپروز، بیماری های روانپزشکی و سرطانها در ارتباط است.

در جریان خون حدود ۹۰-۸۰٪ از مقدار کلی هموسیستئین به صورت متصل شده به پروتئین هاست و ۱۰-۲۰٪ به صورت ترکیب هموسیستئین-سیستئین و هموسیستئین (دایمر Hcy) و کمتر از ۱٪ به صورت فرم آزاد احیاء شده وجود دارد.

غلظت قابل قبول بالینی Hcy در گروه های سنی و سبکهای زندگی مختلف در محدوده ی ۱۵-۱۲ $\mu\text{mol/L}$ میباشد. در رنج سنی ۱۹-۱۲ سال در خانم ها $۳,۳-۷,۲ \mu\text{mol/L}$ و در آقایان $۴,۳-۹,۹ \mu\text{mol/L}$ و در رنج سنی بالای ۶۰ سال در خانمها $۴,۹-۱۱,۶$ و در آقایان همین سن $۵,۹-۱۵,۳$ میکرومول در لیتر نرمال میباشد.

سطوح HHcy به سه دسته تقسیم میشود: افزایش خفیف $30-150 \mu\text{mol/L}$ ، درنوع متوسط $100 \mu\text{mol/L}$ - 31 و درنوع شدید $100 \mu\text{mol/L} > \dots$.

گروهی از دانشمندان دریافته‌اند که سطوح Hcy نسبت معکوس دارد با سطوح Irisin در بیماران تحت بررسی با دیابت و در گروه افراد سالم. Irisin یک همومون رشدی است که با فعالیت های هوازی در بدن فعال شده و خودش تحریک میکند رشد نورون‌ها را و فعالیت شناختی را بهبود میبخشد.

مطالعه ای با بررسی ۶۹ بیمار دیابتی نوع ۲ و تعداد ۷۲ نفر گروه کنترل نشان داد که سطوح هموسیستئین در بیماران دیابتی نوع ۲ نسبت به گروه کنترل بالاتر بوده و نیز نسبت Irisin در گروه دیابتی پایین تر بود. سطوح Hcy به طور معنی داری در بیماران با گلوکوم زاویه ی باز در مقایسه با افراد سالم بالاتر بوده است که به نقش آن در اختلال عملکرد اندوتلیال نسبت داده شد.

HHcy و بیماری آلزایمر: آلزایمر بیماری نورودژنراتیوی است که حاصل نقص پپتید β آمیلوئیدی و شکلی از پروتئین tau میباشد. آلزایمر شایع ترین نوع دمانس و مسئول ۸۰-۵۰٪ علل دمانس میباشد.

Hcy به عنوان یکی از علل قابل پیش گیری مسبب آلزایمر در نظر گرفته شده است. مطالعه ی انجام شده توسط Regland اولین گزارش از سطح بالا رفته ی Hcy در دمانس دژنراتیو اولیه بود.

Zhou et al نشان دادند که افزایش سطح هموسیستئین با پیشرفت بیماری آلزایمر در ارتباط است.

در یک مطالعه ی انجام گرفته توسط Rhodehouse et al در سال ۲۰۱۳ بر روی مدل های حیوانی در موشها، اختلالات شناختی را بدون ویژگی های فنوتیپی بیماری آلزایمر نشان داد.

Sudduth et al با ساخت مدل موشی دمانس عروقی با نقص در تغذیه ی فولات و B_{12} و متیونین اضافه شده، ثابت کردند که دمانس عروقی با افزایش در بتا اینترلوکین ۱، فاکتور نکروز تومور موآلفا، اینترلوکین ۶ دریافت

مغزموشها اتفاق می‌افتد. آنها هم چنین یک فعالیت افزایش یافته از سیستم های متالوپروتئیناز و متالوپروتئیناز ۹ در خونریزی مغزی رایجند.

HHcy و پارکینسون: آسیب سلول های تولیدکننده ی دوپامین باعث ایجاد بیماری پارکینسون میشود. بیماری نورودژنراتیوی که بانقایص حرکتی بروز میکند. حدود ۳۰-۱۰٪ از بیماران پارکینسونی شواهد HHcy را نشان داده اند. در سال ۲۰۱۰، Levin et al سطوح بالای معنی داری از هموسیستئین و متیل مالونات را در بیماران درگیر شده با فلج پیش رونده ی فوق هسته ای، اسکروز آمیوتروفی طرفی و PD یافتند. در حالی که مطالعات زیادی مدعی هستند که HHcy در بیماران PD در ارتباط با درمان لوودوپا میباشد. درمان بالوودوپا باعث جایگزینی دوپامین کاهش یافته میشود، ولی در حال حاضر اطلاعاتی در دست است حاکی از آنکه درمان مزمن بیماران پارکینسونی بالوودوپا باعث افزایش Hcy خون میشود.

مکانیسم عمل و درمان: در سال ۲۰۰۵، Delau و همکارانش گزارش کردند که سیگار کشیدن و واریان TT ژنوتیپ C^{۶۷۷}T آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز باعث ایجاد هیپرهموسیستئینمی میشود که مرگ نوروهای دوپامینرژیک را بالا برده و باعث بروز بیماری پارکینسون میشود.

یکی از ویژگی های مضر hcy برای سلولهای دوپامینرژیک، فعالیت آنتاگونیستی همزمان گیرنده ی دوپامینی ۲ است که به طور انتخابی تمایل گیرنده ی دوپامینی ۲ را برای آگونیست ها (ولی نه برای آنتاگونیست ها) کاهش میدهد.

درمان بالوودوپامیزان hcy را در بیماران پارکینسونی بالا میبرد که فعالیت کاتکول-O-متیل ترانسفراز (COMT) نقش مهمی در این فرایند ایفا میکند. این آنزیم برای متابولیسم لوودوپا از SAM استفاده میکند که در نهایت باعث تخلیه ی منبع گروه متیل شده و هیپرهموسیستئینمی ایجاد میشود.

HHcy ایجاد شده با لوودوپا باعث افسردگی، دمانس، دیس کینزی و تخریب سلولهای اجدادی اندوتلیال میشود. در بالین داروی entacapone در ترکیب با لوودوپا برای جلوگیری از اثرات **HHcy** آن استفاده شده است. این دارو مانع فعالیت **COMT** بر روی لوودوپا شده و بنابراین به ۳-متوکسی-۴-هیدروکسی-L فنیل آلانین تبدیل نشده و از سد خونی-مغزی عبور نمیکند و در حین افزایش فراهم زیستی آن باعث کاهش اثرات آن در ارتباط با افزایش سطح **Hcy** نیز میشود.

HHcy و اوتیسم: اوتیسم، بیماری عصبی در کودکان است که بانقص در روابط اجتماعی، ارتباطات، رفتارها و اعمال تکراری مشخص میشود. در مایعات بیولوژیکی کودکان اوتیسمی، سطح بالای **Hcy** در مقایسه با گروه کنترل یافت شده است.

HHcy و بیماری هانتینگتون: هانتینگتون یک بیماری نورودژنراتیو اتوزومال غالب با تکرار **CAG** در انتهای **S** از ژن مربوطه میباشد. میزان این تکرار در جمعیت معمولی ۳۹-۸ بار و در این بیماران ۱۲۱-۳۶ مرتبه میباشد که خود را با علائم حرکتی، اختلال شناختی و علائم متغیر روانی نشان میدهد.

پروتئین هانتینگتون تمایل بالایی برای متصل شدن به آنزیم **CBS** داشته و فعالیت آن را مهار میکند که باعث افزایش سطح **Hcy** میگردد. هم چنین پروتئین هانتینگتون با تغییر فعالیت سیستماتینوین بتاستاز بر متابولیسم **Hcy** موثر است.

HHcy و نقایص لوله ی عصبی جنینی: نقایص لوله ی عصبی به عنوان یکی از شایع ترین نقایص تولد در سطح جهان است. این نقص نتیجه ی عدم تشکیل و یا عدم بسته شدن لوله ی عصبی در ۲۸ روز اول بارداری است. مطالعات نشان داده اند که نقص متابولیسم فولیک اسید در این بیماری نقش دارد.

چندین مطالعه بیان کرده اند که سطوح بالای Hcy مادری با افزایش ریسک تولد فرزندى بانقص لوله ی عصبی همراه بوده است. مادران گروه مطالعه همچنین دارای کمبود ویتامین B₁₂ نیز بوده اند. در مورد پلی مورفیسم MTHFR در گروه مادران گروه کنترل و مادران با فرزندانی NTD تفاوتی دیده نشد.

HHcy و بیماری های قلبی-عروقی: ارتباط بیماری های قلبی عروقی و بسیاری از عوامل خطر مثل: فشارخون بالا، دیابت شیرین، سیگار کشیدن ثابت شده است اما در دهه های اخیر عوامل دیگری شناسایی شده اند از جمله تأثیر هموسیستئین.

ارتباط بین MTHFR و شدت بیماری شریانهای کرونر در بیماران که تحت جراحی بای پس کرونر قرار گرفته اند، نشان داده که سطح Hcy به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بوده است و ژنوتیپ C^{677T} از MTHFR با افزایش وسعت CAD در بیماران مرتبط بود.

در مطالعه ای سطح سرمی Hcy در مردهایی که به طور ناگهانی از CAD شدید فوت شده بودند، نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل سطح سرمی بالاتری از هموسیستئین داشته اند. این ریسک افزایش یافته اگر با حضور اختلال چربی های خون و دیابت شیرین و وجود پلاکهای آترومایی بود، چند برابر میشد.

هیپر هموسیستئینی و آترواسکلروز:

آترواسکلروز یک بیماری التهابی مزمن شریانهاست که ذرات چربی، کلسترول، کلسیم و دیگر مواد روی اندوتلیال شریانها رسوب میکنند. چندین مطالعه HHcy متوسط را به عنوان یک عامل خطر غیر وابسته، برای این بیماری مشخص کردند. در مدل موشی HHcy، آترواسکلروز تسریع شده با ایجاد نقص در آپو لیپوپروتئین

E

HHcy و سیگار کشیدن و بارداری: سیگار کشیدن باعث افزایش استرس اکسیداتیو و بسیاری از بیماریهای مزمن میشود. سیگار کشیدن آنتی اکسیدانهای سلول را تخلیه کرده و همچنین با افزایش سطح هموسیستئین در ارتباط است.

در طی بارداری نیز یک افزایش در مقدار Hcy و کاهش سطح فولات به وجود می آید و کاهش فولات هم چنان بعد از بارداری نیز اتفاق می افتد. در مادران سیگاری میزان هموسیستئین به مراتب بالاتر از مادران غیر سیگاری است و این افزایش در خون بندناف نوزادان آنها نیز دیده میشود.

HHcy و سرطان سینه: دریافت میزان بالای فولات که در سبزیجات و میوه ها وجود دارد، با کاهش خطر سرطان سینه در ارتباط است. کمبود فولات از طریق اختلال در سنتز ترمیمی DNA و قطع متیلاسیون که ممکن است باعث فعالیت پروتئوکوژنها شود، افزایش خطر سرطان سینه را در پش دارد.

در یک مطالعه ی انجام گرفته با ۵۶۱ بیماری کسر سینه و ۹۱۲ نفر افراد سالم، نشان داد که ارتباط معکوسی بین فولات رژیم غذایی و کسر سینه وجود دارد و هیچ یک از پلی مورفیسم های MTHFR, MTR, MTRR را معنی داری برای جاد کسر سینه نداشتند.

در زنان سن یائسگی یک افزایش خطری در ایجاد سرطان پستان در ژنوتیپ TT^{۶۷۷}... MTHFR در مقایسه با نوع CC^{۶۷۷} دیده شد. هم چنین GG^{۶۶}.. MTRR در زنان یائسه با دریافت فولات کم، باعث افزایش ریسک سرطان سینه شده است.

HHcy و افسردگی: کمبود فولات، B_{۱۲} و ال TT^{۶۷۷} از ژن MTHFR که باعث واکنش ناقص متیلاسیون در CNS میشوند با بیماری افسردگی در ارتباطند. هر چند مطالعاتی وجود دارد که این ارتباط را رد کرده است بیماریهای خودایمنی: چند بیماری خودایمنی با نقص در متابولیسم گروه متیل و عدم تعادل Hcy مرتبط

شناخته شدند. در انسانها، هر دو نوع دیابت شیرین ۱ و ۲ با هیپوهوموسیستئینمیا که بعداً به سمت Hcy پیشرفت کرده، مرتبط اند. فاز ابتدایی هیپوهوموسیستئینمی در نتیجه ی افزایش ری متیلاسیون و کاتابولیسم Hcy با اثر CBS و BHMT می باشد. در بیماران دیابتی همچنین بالقاً متیل ترانسفرازهای اختصاصی مثل PEMT و GNMT میزان هموسیستئین افزایش میابد. در بیماران بانوروپاتی دیابت نوع ۲، واکنش ترانس سولفوراسیون افزایش یافته بوده است. و همچنین القای همزمان BHMT و CBS باعث افزایش ترانس سولفوراسیون ری متیلاسیون و در جهت کاهش تجمع Hcy در سلول و نهایتاً خون انجام میگیرد.

بیماری های گوارشی: HHcy باعث افزایش متالوپروتئیناز ۹ ماتریکس، گونه های واکنشی اکسیژن و سوپراکسید میشود که در لوله ی گوارش التهاب ایجاد میکند. همچنین HHcy وابسته به پلی مورفیسم MTHFR...C6۷۷T با ترومبوز و ریدمزانتریک و کاهش خونسازی روده ها در ارتباط است.

افزایش غلظت Hcy پلاسما در بیماری هایی مثل یبوست، بیماری های التهابی روده، کرون و سرطان کولورکتال دیده شده است.

پایداری سیستم عضلانی-اسکلتی: Hcy با اختلال عملکرد معمول استئوکلستها، میتواند به سلامت استخوانها آسیب بزند. در محیط های آزمایشگاهی، دیده شد که Hcy باعث افزایش تنظیمی تشکیل استئوکلستها و مهار آپوپتوز آنها شده با ایجاد گونه های واکنشی اکسیژن.

این افزایش استرس اکسیداتیو باعث القاء RANK-L (فعال کننده ی گیرنده برای فاکتور هسته ای لیگاند κB) که فاکتور تمایز استئوکلستی است، شده و در نتیجه افزایش باز جذب استخوان روی میدهد.

این فرآیند باعث ایجاد افزایش ریسک شکستگی ها و کاهش غلظت معدنی استخوان در افراد با غلظت بالا Hcy میشود. همچنین هموسیستئین آپوپتوز وابسته به کاسپازسلولهای استرومایی مغز استخوان را القاء میکند، که

از ترمیم استخوان جلوگیری میکند. همچنین تجمع هموسیتئین در ماتریکس کلاژنی خارج سلولی باعث کاهش زیادی در استخوان ترا بکولاریا اسفنجی و کاهش استحکام استخوان میشود.

فصل سوم

مواد و روش کار

۳-۱ نمونه حیوانی:

حیوانات مورد استفاده در این تحقیق موشهای صحرایی نر از نژاد ویستار (تهیه شده از انستیتوسرم سازی رازی) بودند که در هنگام جراحی در محدوده وزنی ۲۸۰-۲۲۰ گرم قرار داشتند.

حیوانات حداقل ۲ هفته قبل از شروع آزمایش به منظور سازش با شرایط محیط، در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی قزوین تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دسترسی نامحدود به آب و غذا قرار داشتند. موش ها در ۴ گروه ۱۰-۹ تایی در قفس هایی از جنس پلی کربنات به ابعاد ۵۹×۲۰×۳۸ سانتی متر نگهداری می شدند.

۳-۲ مواد و وسایل مورد نیاز:

۱- سم ۶-هیدروکسی دیپامین (۶-OHDA)

۲- آپومورفین

۳- آب مقطر

۴- بتادین

۵- اسید آسکوربیک

۶- کتامین

۷- زایلزین یا رومپان

۸- الکل اتانول

۶- هیدروکسی دپامین و اپومرفین از شرکت سیگما تهیه شد. الکل و اسید اسکوربیک از شرکت مرک و باقی مواد تولید داخل کشور بودند.

۱۰- ترازو

۱۱- دستگاه استریوتاکس

۱۲- سرنگ همیلتون

۱۳- لوازم تشریح (قیچی، تیغ جراحی، نخ بخیه و..)

۱۴- سرنگ انسولین

۱۵- سرمه

۱۶- پنبه استریل

۱۷- چراغ مطالعه

۱۸- دستگاه Shaker

۳-۳: طراحی مطالعه:

۳-۳-۱ جراحی استرئوتاکسیک و تزریق سم:

تمامی حیوانات در تمامی گروه ها تحت جراحی استرئوتاکسی قرار گرفته و سم ۶-هیدروکسی دوپامین را با غلظت $4\mu\text{g} / \mu\text{L}$ بصورت حل شده در سالین حاوی ۲ صدم درصد اسید اسکوربیک (به عنوان فعال کننده) دریافت نمودند. هر موش ۱۰ میکرولیتر از محلول حاوی سم را دریافت نمود.

قبل از جراحی ابتدا حیوانات وزن شده و پس از تزریق دارو با ترکیب کتامین و زیلازین (۱۰۰ و ۱۰ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن، بصورت درون صفاقی) بیهوش می شدند. پس از بیهوشی کامل موهای روی جمجمه برداشته شده و حیوان را در دستگاه استرئوتاکس قرار دادیم، به این صورت که میله های گوشی در فرورفتگی مجرای گوش خارجی و دندان های پیشین در سوراخ میله دندانی جاسازی شد. میله دندانی در مقیاس ۲,۳- و نیز ۳,۴+ میلی متر نسبت به صفر افقی (TB) تنظیم شد تا مطابق اطلس پاکسینوس و واتسون جمجمه حیوان درون دستگاه کاملاً افقی باشد. در پوست سر از ناحیه بین دو چشم تا انتهای استخوان پس سری یک برش طولی به اندازه ۲ سانتیمتر ایجاد شده و پوست سر را توسط گیره هایی به طرفین کشیدیم. آنگاه محل شکاف را بوسیله بتادین ضد عفونی کرده و مایچه ها و بافت های پیوندی زیرین را برداشته و سطح استخوان جمجمه را با پنبه آغشته به الکل سفید کاملاً تمیز کردیم تا درزهای استخوان های جمجمه و نقطه برگما مشخص شود (شکل ۲). برای تشخیص بهتر نقطه برگما، از چراغ مطالعه استفاده کردیم. برگما محل تلاقی درز تاجی و درز سهمی است (شکل ۳). درز تاجی محل اتصال استخوان های پیشانی و آهیانه و درز سهمی است سهمی شکاف بین استخوان های آهیانه است. سپس به کمک اطلس پاکسینوس و واتسون سم در ۴ نقطه در MFB سمت راست بر اساس مختصات زیر تزریق گردید:

TB: +۳,۴ TB: -۲,۳

AP: -۴ AP: -۴,۴

L: ۰,۸ L: -۱,۲

AP: قدامی - خلفی براساس فاصله از برگما

L: میانی - جانبی بر اساس فاصله از خط وسط

DV: پشتی - شکمی بر اساس فاصله از سطح جمجمه

سپس سطح جمجمه با مته دندانپزشکی سوراخ گردیده و پس از کشیدن سم به میزان لازم به درون سرنگ، نوک سرنگ به محل مورد نظر در MFB (دسته ی میانی مغز قدامی) وارد گردید. سپس به آهستگی در یک دوره ۸ دقیقه ای سم به ناحیه مورد نظر تزریق شد. پس از آن ۵ دقیقه سرنگ در جای خود باقی مانده و بعد به آهستگی با سرعت ۱ میلی متر در دقیقه از مغز خارج می شود. پس از خروج سرنگ همیلتون، پوست سر بخیه زده شده و با بتادین ضد عفونی شد.

۴-۳ آزمون های رفتاری:

در این تحقیق شدت بیماری پارکینسون توسط آزمون رفتاری متداول به نام چرخش القاء شده با آپومرفین مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفت.

آزمون چرخشی القاء شده توسط تزریق آپومورفین:

این آزمون بر اساس روش به کار برده شده توسط فوجی و همکاران ۱۹۹۶ (۱۴) صورت گرفت. به طور خلاصه چنانچه تزریق سم OHDA-۶ سبب تخریب گسترده نورونی در دسته ی میانی مغز قدامی گردد، ۲ تا ۴ هفته پس از جراحی، موش ها در قبال تزریق آپومورفین (اگونیست گیرنده های دپامینرژیک) چرخش های پی در پی به سمت مقابل محل تزریق نشان می دهند. تعداد این چرخش ها در واحد زمان معیاری از شدت تخریب نورونی در دسته ی میانی مغز قدامی و تاثیر مداخله میباشد.

برای اجرای این ازمون موش ها ابتدا درداخل یک استوانه پلکسی گلاس شفاف با ابعاد ۲۸ سانتیمتر قطر و ۳۸ سانتیمتر ارتفاع قرار داده می شدند و به آن ها ۵ دقیقه جهت سازش با محیط زمان داده شد. سپس اپومرفین هیدروکلراید (۰,۵mg/kg, i.p) به موش ها تزریق می شد و ۱دقیقه پس از آن تعداد چرخش ها به طرف محل تزریق سم (عدد منفی) و یا خلاف آن (عدد مثبت) به مدت ۱ساعت در فواصل ۱۰ دقیقه ای ثبت می گردید. در پایان تعداد چرخش خالص موش ها به یک طرف با جمع جبری اعداد به دست آمده محاسبه می شد.

نمونه گیری خون و اندازه گیری هموسیستین پلاسما :

الف- نمونه گیری خون. نمونه گیری خون در ۲ مرحله انجام گرفت: ۱- قبل از جراحی استرئوتاکسیک . نمونه خون از ورید دم حیوانات تهیه گردید. به این ترتیب که حیوان در یک رستریئر مخصوص قرار گرفته به گونه ای که دم حیوان بیرون قرار گیرد. سپس دم حیوان اندکی گرم شده (با مالش دست) تا جریان خون دردم افزایش یافته و ورید مورد نظر آشکار گردد. سپس خونگیری با استفاده از scalp vein به عمل آمده و دریک میکروتیوب جمع آوری گردید.

در انتهای آزمایش ها نمونه خون از قلب حیوانات جمع آوری شد. به این صورت که ابتدا حیوانات با ترکیب کتامین / زیلازین بیهوش شده و سپس با استفاده از سرنگ ۵ml از قلب خون جمع آوری می شد. نمونه خون های جمع آوری شده در ۵۰۰۰rpm برای ۵ دقیقه سانتریفوژ شده تا سرم از عناصر سلولی جدا گردد. سپس سرم در یک میکروتیوب دردمای ۸۰- درجه سانتی گراد تا زمان اندازه گیری هموسیستین نگهداری می گردید.

ب- اندازه گیری هموسیستین پلاسما. برای اندازه گیری هموسیستین سرم ، از کیت الایزای شرکت Axis-Shield استفاده شد. اصول سنجش هموسیستین با روش بکارگرفته الایزای فوق بطور خلاصه از

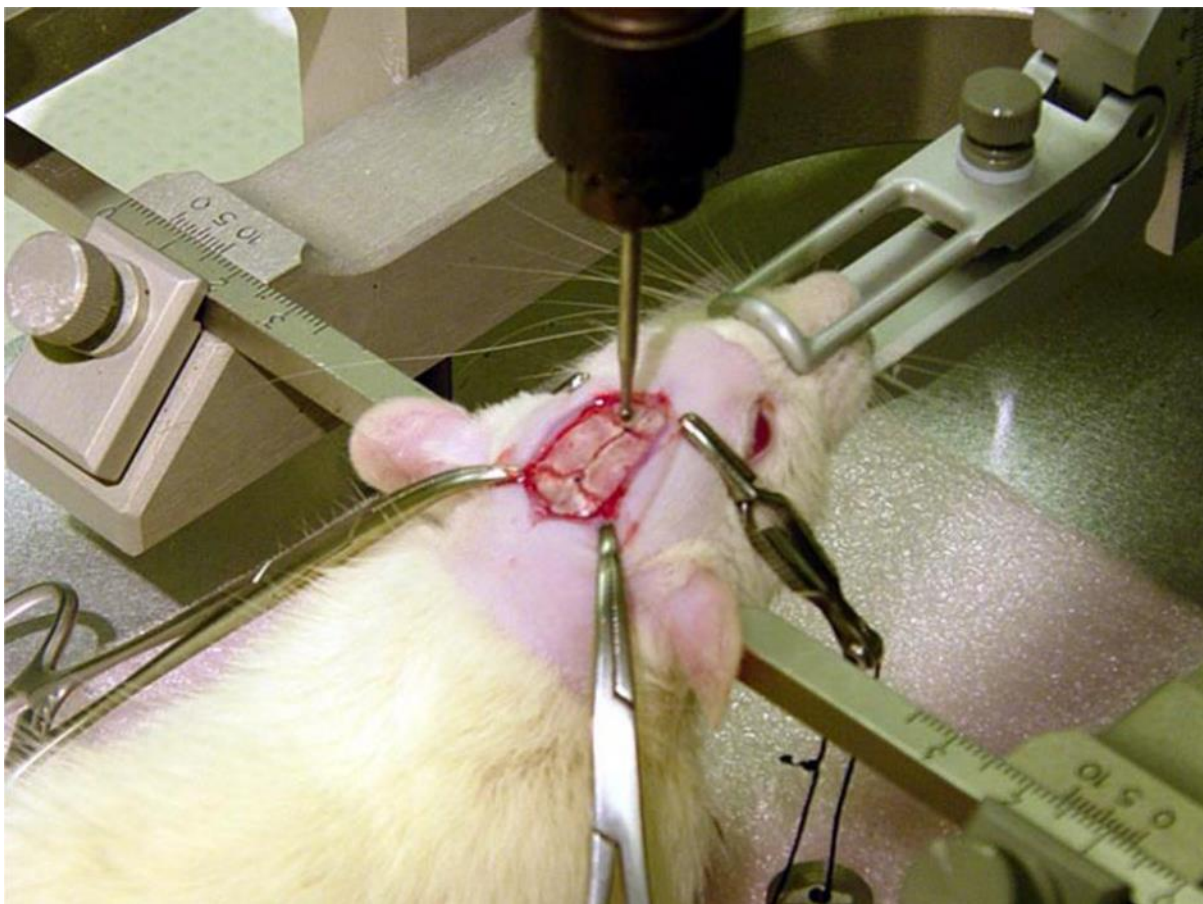
این قرار است که ابتدا هموسیستئین متصل به پروتئین به نوع آزاد احیا گشته و سپس طی یک واکنش آنزیمی جداگانه به ماده S-adenosyl-L-Homocystein (SAH) تبدیل می شود .

حال این ماده در یک واکنش الایزای رقابتی مورد سنجش قرار می گیرد که در آن با SAH متصل به جداره رقابت می کند. و در نهایت با استفاده از آنتی بادی های نشاندار با آنزیم HRP و نیز سوبسترای H_2O_2 ایجاد رنگ و کالریمتری خواهد شد. در این فرایند ، منحنی استاندارد با بکارگیری ۶ کالیبراتور تهیه شد و از سه سرم کنترل با غلظت های کم، طبیعی و بالا استفاده شد که همگی در رنج های مطلوب بودند.

دقت تست و یا تکرار پذیری (CV) آن کمتر از ۸٪ و حداقل میزان قابل اندازه گیری آن $1\mu\text{mol/L}$ و خطی بودن آن تا $50\mu\text{mol/L}$ بود.

تجزیه و تحلیل آماری:

داده ها بر حسب میانگین \pm خطای معیار بیان شده اند. داده های آزمون های رفتاری در ابتدا با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov تجزیه و تحلیل شدند تا توزیع نرمال آن ها بررسی شود. سپس از آزمون t زوجی دانشجویی (Student's paired t-test) و انووا یک طرفه (One-Way ANOVA) برای تجزیه و تحلیل نتایج آزمون های رفتاری و مقادیر هموسیستئین استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن اختلاف ها در نظر گرفته می شد.



۱۳ شکل ۱۳: حیوان در دستگاه استرئوتاگس. سطح استخوان جمجمه حیوان قابل مشاهده می باشد.

فصل چہارم

نتائج

مقایسه tHcy قبل و بعد از تزریق ۶-OHDA:

بررسی tHcy قبل و بعد از تزریق ۶-OHDA نشان می دهد که tHcy پس از تزریق سم کاهش قابل

ملاحظه ای یافته است ($P < 0.001$, paired t-test, $n=32$). (نمودار ۱)

قبل از تزریق سم، $tHcy \ 13.3 \pm 0.47 \mu\text{mol/L}$ و شش هفته بعد از تزریق سم $10.65 \pm$

$0.63 \mu\text{mol/L}$ بود ($n=32$ شکل ۱). نکته قابل توجه این بود که شدت علائم رفتاری در آزمون چرخش

القاء شده با اپومرفین در تمامی موش های دریافت کننده سم یکسان نبود.

بر این اساس این موش ها به سه گروه تقسیم شدند: ۱. موشهای صحرایی پارکینسونی شدید با بیش از ۶

چرخش در دقیقه ($n=12$). ۲. موش های پارکینسونی متوسط با ۶-۲ چرخش در دقیقه ($n=12$). و ۳. موش

های پارکینسونی ضعیف با کمتر از ۲ چرخش در دقیقه ($n=8$). در گروه ضعیف، سطح Hcy به طور معنی

داری کاهش یافت اما در گروه پارکینسونی شدید کاهشی مشاهده نشد (شکل ۲).

بررسی های آماری مشخص کرد که همبستگی معنی داری بین شمار چرخش ها و tHcy پس از تزریق سم

وجود دارد (ضریب همبستگی اسپیرمن = 0.471 ، با $P < 0.01$, $n=32$). لکن بین tHcy قبل از تزریق سم با

شمار چرخش ها همبستگی وجود نداشت (ضریب همبستگی = -0.04 ، $n=32$).

بررسی گروه های مختلف پارکینسونی نشان داد که همبستگی مثبت بین شمار چرخش ها و tHcy پس از

تزریق سم تنها در گروه پارکینسونی شدید وجود داشت (ضریب همبستگی = 0.342 ، $P < 0.05$ ،

$n=12$). (نمودار ۲)

تزریق سم ۶-هیدروکسی دیپامین بدرون MFB موش های صحرایی سبب تخریب نورون های مسیر

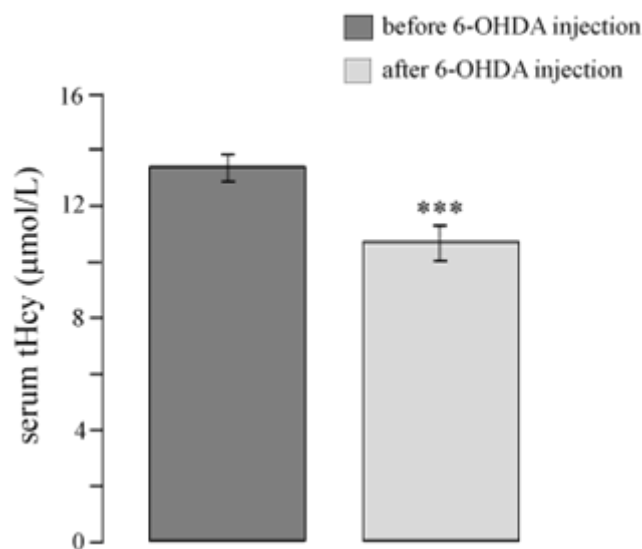
دیپامینرژیک هسته جسم سیاه می شود. تخریب این هسته ها سبب بروز علائم رفتاری در موش ها می شود

که توسط آزمون چرخش القاء شده با اپومرفین ارزیابی می شود. شدت علائم رفتاری در این آزمون معیار قابل قبولی از شدت تخریب نورون های دپامینرژیک در مسیر هسته جسم سیاه می باشد.

۱-۳. آزمون چرخش القاء شده با اپومرفین.

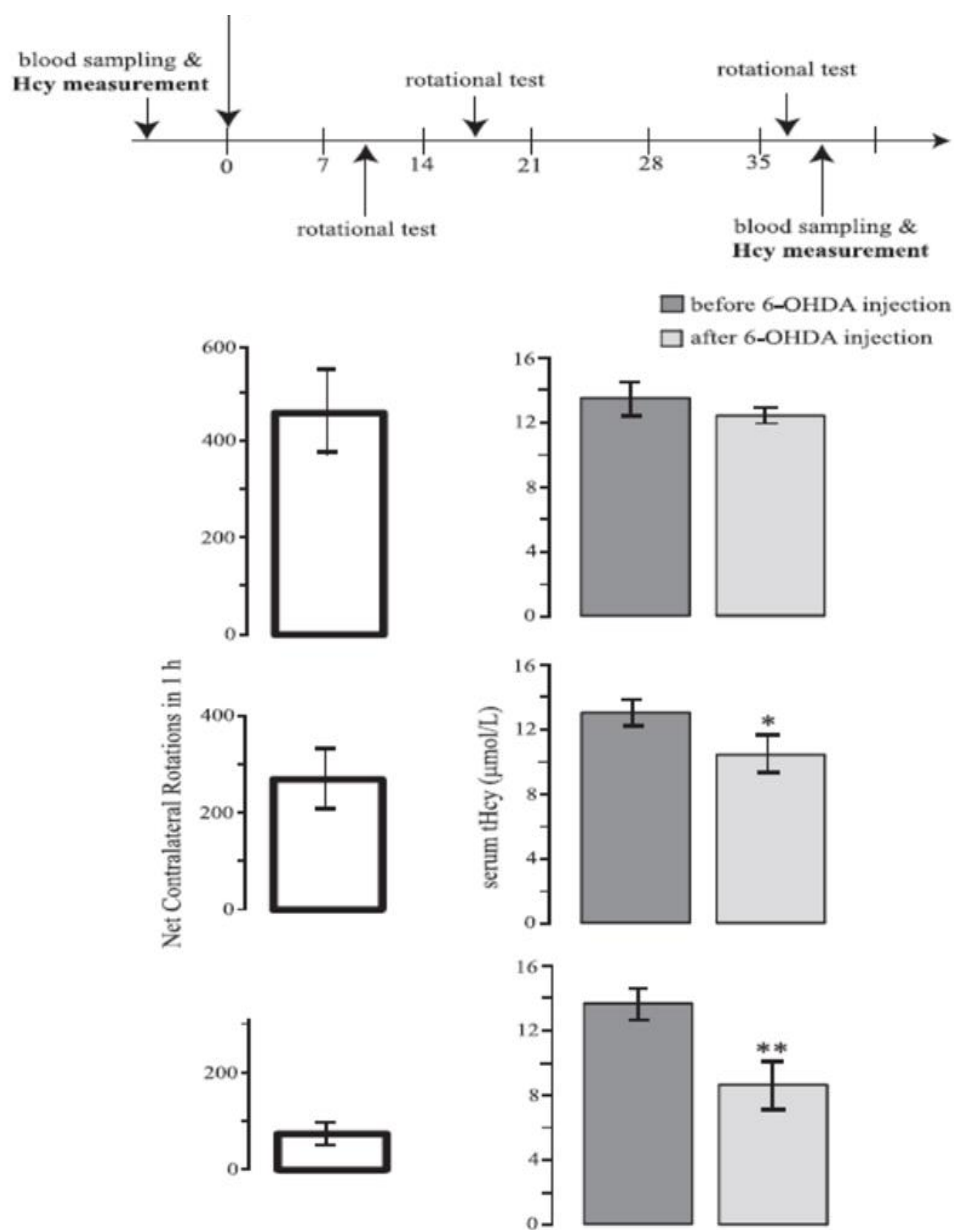
این آزمون در سه نوبت در هفته های دوم، سوم و ششم پس از جراحی انجام شد. در این آزمون درموش هایی که نورون های دپامینرژیک مسیر هسته جسم سیاه آن ها تخریب شده است در قبال تزریق اگونیست های دپامین (مثلا اپومرفین) چرخش هایی را به سمت مقابل محل تخریب (مقابل طرف تزریق سم) نشان می دهند که تعداد آن ها در واحد زمان معیاری از شدت تخریب این نورون ها می باشد. انجام سه بار متوالی این آزمون در فواصل زمانی معین نسبت به یکدیگر پیشرفت تخریب این نورون ها را نشان می دهد.

نمودار ۱: میزان tHcy قبل و در هفته ششم پس از تزریق 6-OHDA



مودار ۲: ارتباط بین میزان چرخش القاء شده با آپومورفین و سطح کلی هموسیستئین در موشهای صحرایی
نحت تأثیر OHDA-6.

دیاگرام زمان جدول بندی این آزمایشات را نشان میدهد. هیستوگرام سمت چپ، میزان چرخشها ۶ هفته بعد از تزریق ۶-هیدروکسی دوپامین و هیستوگرام سمت راست سطح کلی هموسیستئین قبل و بعد از تزریق سم رادرسه گروه از موشهای گروه شدید (نمودار بالا و تعداد=۱۲)، گروه متوسط (نمودار وسطی و تعداد=۱۲) و گروه ضعیف (نمودار پایینی و تعداد=۸) با Paired t-test، $P < 0.05$.



فصل پنجم

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه مارتباط بین سطح Hcy و میزان چرخش القاء شده توسط آپومورفین رادرموشهای پارکینسونی شده با ۶-هیدروکسی دوپامین را بررسی کردیم.

یافته ی مهم حاکی از آن بود که کاهش معنی داری در هموسیستئین کلی موشهای تحت تأثیر سم OHDA-۶ وجود دارد. هرچند که این کاهش در موشهای با پاسخ چرخشی کم مشاهده شد و در گروه با چرخش القاء شده با آپومورفین زیاد وجود نداشت. هم چنین آنالیزهای آماری مان نشان داد که یک همراهی مثبت بین Hcy و بعد از تزریق سم با میزان چرخش های القاء شده توسط آپومورفین وجود دارد.

در طی ۴۵ سال گذشته هیپرهموسیستئینی جایگاه خاصی در لغت نامه ی پزشکی دارا شده است . با تحقیقات McCully در سال ۱۹۶۹ که اثر متابولیکی افزایش غلظت هموسیستئین و یامشتقات آن را به عنوان علتی برای آسیب های شریانی در دو بیماری هموسیستئینوری و نقص در ژن C¹ cb در ویتامین B_{۱۲} بیان کرد. بعد از چند سال دانشمندان به این نتیجه رسیدند که غلظت ۴,۴-۱۰,۸ μmol/L از هموسیستئین در خون نرمال بوده و هر میزانی بالاتر از این مقدار میتواند سلامتی انسان را به خطر اندازد. یک مطالعه انجام شده توسط Lindenbaum نشان داد که سطح بالای هموسیستئین فقط عامل بیماری شریانی نیست، به عنوان مارکری از کمبود ویتامین B_{۱۲} در بیماران روانپزشکی نیز میباشد.

تاکنون مشخص نشده که آیا سطح بالای هموسیستئین در بدن عامل ایجاد بیماری های نورودژنراتیو است یا میزان این ماده در نتیجه ی شروع یا پیشرفت بیماری های نورودژنراتیو بالا رفته است.

در یک آنالیز چند متغیری، هیپرهموسیستئینی با سیگار کشیدن، افزایش سن، الکلیسم، هیپراوریسمی، کمبود ویتامین B_{۱۲} در ارتباط بوده است.

باید به این سؤال پاسخ داد که چرا سطح کلی هموسیستئین بعد از تزریق OHDA-۶ کاهش یافت؟

Martins و همکارانش مدعی هستند که غلظت هموسیستئین پلاسما در موش‌ها از $2,94 \pm 0,47 \mu\text{mol/L}$ در سن

نوزادی به $8,29 \pm 0,67 \mu\text{mol/L}$ در سه ماهگی افزایش می‌یابد. همچنین در ۶ ماهگی این مقدار به

$1,65 \pm 0,42 \mu\text{mol/L}$ و در ۲۸ ماهگی به $4,87 \pm 0,81 \mu\text{mol/L}$ کاهش می‌یابد.

هرچند که این مقادیر با اطلاعات مامتناقض هستند (در مطالعه‌ی ماموش‌های صحرایی حدود ۳ ماهه و سطح

هموسیستئین $13 \mu\text{mol/L}$ بود) و اینکه مارتین بیان می‌کند که افزایش سن از غلظت هموسیستئین

پلاسما می‌کاهد. بنابراین به طور قطعی مانمیتوانیم کاهش سطح tHcy را به اثر سم 6-OHDA نسبت دهیم و بیان

کنیم که افزایش سن در کاهش مارک مطالعه‌ی ماموثر نبوده است.

به عنوان مثال در مطالعه‌ی انجام گرفته توسط حقدوست و همکاران در گروه‌های پارکینسونی شدید دریافت

کننده‌ی فولیک اسید و B_{12} و همچنین یک سری از موش‌های تحت درمان با پیوند سلولی، بهبود قابل توجهی

در میزان چرخش‌های القاء شده نشان داده و ۱۶ هفته بعد از درمان پیوند سلول، میزان tHcy اندازه‌گیری شده

کمتر از مقدار بدست آمده قبل از تزریق 6-OHDA نبود.

مکانیسم دیگر پاسخ دهنده به سؤال موجود، واکنش بین 6-OHDA و آنزیم شکننده‌ی کاتکول

آمینها (COMT) است. زیرا آزمایشات شیمیایی حاکی از آنند که COMT به وسیله‌ی 6-OHDA غیرفعال

میشود.

چندین مطالعه‌ی انسانی اثبات کرده اند که سطح Hcy در خون و مایع مغزی-نخاعی بیماران پارکینسونی

افزایش می‌یابد. که چندین محقق این افزایش را به درمان بیماران با لوودوپا نسبت داده اند. مکانیسم احتمالی

برای این تغییر ایجاد شده، تغییر مولکولی لوودوپا به دوپامین است که باعث حذف S-آدنوزیل متیونین شده که

برای فرآیند تبدیل Hcy به متیونین نیاز است. تبدیل شدن لوودوپا به دوپامین نیز نیاز به عملکرد

آنزیم COMT (فرآیند O متیلاسیون) دارد. بنابراین در گزارشاتی، استفاده ی همزمان لوودوپا با COMT، از طریق کاهش دسترسی محیطی لوودوپا، سطح هموسیستئین را کاهش میدهد.

هرچند که برخی از اطلاعات به دست آمده از مطالعه ی ما، نمیتواند کاهش هموسیستئین را با توجه به مکانیسم های توضیح داده شده تحکیم کند.

ماسطح tHcy را ۶ هفته بعد از تزریق سم ۶-OHDA یعنی زمانی که پایان اثر شیمیایی سم بود، اندازه گرفتیم، که میزان کاهش همچنان ادامه داشت. همچنین اگر کاهش سطح هموسیستئین به دلیل مهار COMT توسط ۶-OHDA بود، سطح کلی هموسیستئین در تمامی گروهها از جمله گروه پارکینسونی شدید نیز باید کاهش را نشان میداد. در واقع یافته های مان نشان دادند که ارتباط مستقیمی بین tHcy و میزان چرخش های القاء شده وجود دارد. این تست چرخشی، یک معیار استاندارد برای میزان آسیب نورونهای دوپامینرژیک ماده ی سیاه مغز میباشد. بنابراین میزان چرخش وابستگی به میزان ضایعه ی نورونهای ماده ی سیاه و درجه ی تخریب دوپامین استریاتوم دارد. بنابراین سطح بالاتر tHcy در موشهای صحرایی با پارکینسون شدید ممکن است حاکی از ضایعه ی شدید تر در نورونهای دوپامینرژیک ماده ی سیاه باشد.

اما چگونه در نبود نورونهای دوپامینرژیک سطح tHcy افزایش میابد؟

این مسئله اثبات شده است که سم ۶-OHDA علاوه بر نورونهای دوپامینرژیک، میتواند نورونهای نورآدرنرژیک و سروتینرژیک را نیز تخریب کند. نورآدرنالین به عنوان یک پذیرنده ی گروه متیل عمل میکند و تولید هموسیستئین نیز وابسته به متیلاسیون است. از طرفی هر دو سیستم نورآدرنرژیک و دوپامینرژیک در بیماری پارکینسون مهم بوده و هر یک بر عملکرد دیگری تأثیرگذار است. به عنوان مثال بیان شده که فقدان نورونهای NA در لوکوس سرولئوس باعث تشدید حساسیت نورونهای DA به آسیب میشود. همچنین

مطالعات انسانی حاکی از آنند که در بیماری پارکینسون، نورونهای DA لوکوس سرولئوس به طور معنی داری کاسته شده اند.

بعضی از مطالعات بیان کرده اند که خودبیماریهای نورولوژیک و یادمانهای انجام شده در زمینه ی آنها باعث القاء هیپرهموسیستینمی شده اند و Hcy رابه عنوان یک ماده ی نوروتوکسیک در نظر ندارند.

این درحالی است که مطالعات دیگری اثبات کردند که هموسیستین با اثر نوروتوکسین خود باعث اثرات نورودژنراتیو بر روی سلولهای جسم سیاه شده است. مطالعات نشان داده اند که Hcy در سلولهای دوپامینی انسانی در معرض Fe^{2+} پرواکسیدانت یا حشره کش روتنون، باعث تشدید استرس اکسیداتیو، اختلال عملکرد میتوکندریایی و آپوپتوز شده است. همچنین تزریق مستقیم Hcy در جسم سیاه یا استریاتوم، تخریب نورونی القاء شده با MPTP و اختلال عملکرد حرکتی را تشدید میکند.

Xing گزارش کرده که تزریق موضعی Hcy در جسم سیاه موشهای تحت تأثیر 6-OHDA، باعث افزایش میزان رفتار چرخشی و کاهش تعداد نورونهای رنگ آمیزی شده با تیروزین هیدروکسیلاز در مقایسه با موشهای دریافت کننده ی 6-OHDA به تنهایی شده است.

داده های ما ارتباطی را بین سطح کلی هموسیستین قبل از تزریق 6-OHDA و میزان رفتار چرخشی بعد از تزریق سم 6-OHDA را نشان نداد هرچند که نمیتوانیم اثر نوروتوکسیک Hcy را رد کنیم زیرا هیچ گونه ارزیابی از اثر مستقیم Hcy بر روی پارکینسونیسم انجام نشد و تزریق سیستمیک یا موضعی Hcy را انجام نداده ایم.

در مطالعه ی دیگری در بررسی ۲۶۱ بیمار فشارخونی، ارتباط معنی داری بین سطح هموسیستین بالا و اندکس مقاومتی کاروتید که ریسک ایسکمی مغزی تخمین میزند، آشکار شد.

Hcy به عنوان قوی ترین عامل carotid-resistive index شناخته شد. ($P < 0.01$)

Zarkavo&Orlovsky گزارش دادند که سطح بالای Hcy و سطح سرمی پایین B_{۱۲} در بیماران با ایسکمی

قلبی و بیماران بازخم پپتیک معده دیده شده است.

در یک بررسی انجام شده در افراد مسن سالم، ارتباط معکوسی بین سطح سرمی هموسیستئین و جریان خون

مغزی پیدا شد. در مورد خونرسانی مغز، از آنجایی که به نیروی جاذبه بستگی دارد، کاهش فشارخون

میتواند باعث درجاتی از ایسکمی مغزی شود و هم چنین افزایش فشارخون میتواند باعث افزایش فشار داخل

مجمعه شود. نتایج این مطالعه حاکی از آن بود که بالا رفتن Hcy به طور مستقیم باعث کاهش جریان خون

مغز میشود و میتواند به عنوان نشانه ای در میزان جریان خون مغزی در افراد مسن باشد.

Gaur و همکارانش دریافتند که سطح بالای Hcy پلاسما با انسداد ورید شبکه ی چشم و شریان شبکه در

ارتباط است. این ارتباط در افراد جوان شایعتر از افراد مسن میباشد.

Kwon و همکارانش در مطالعه ای که انجام دادند به این نتیجه رسیدند که بالا رفتن سطح Hcy در سکتة ی

مغزی حاد، ریسک ایجاد نقایص عصبی زود هنگام را افزایش داده است.

در هر صورت حتی اگر سطوح بالای Hcy به عنوان یک عامل خطر برای بیماری پارکینسون و بیماریهای

دیگر نورودژنراتیو به حساب نیاید ولی کاهش سطح غیر طبیعی آن اهمیت دارد زیرا در بیماری های عروق

مغزی و بیماریهای روان پزشکی مثل دمانس، افسردگی، اختلالات شناختی و همچنین در تشدید تظاهرات بالینی

پارکینسون مؤثر است. بیان شده است که دریافت فولیک اسید، B_۶ و B_{۱۲} به طور مؤثری از غلظت بالای

هموسیستئین میکاهد.

اطلاعات بدست آمده از بررسی های مانشان میدهد که پارکینسونیسم القاء شده با 6-OHDA یک ارتباط مستقیم با سطح کلی Hcy سرم و شدت علائم رفتاری دارد. همچنین شدت علائم رفتاری انعکاسی از میزان ضایعه ی تخریبی نورونهای دوپامینرژیک ماده ی سیاه میباشد. سطوح بالای Hcy، تخریب نورونی بیشتری را ایجاد میکند. بنابراین سطوح بالای Hcy در بیماران پارکینسونی یا حتی دیگر بیماری های عصبی، ممکن است عارضه ای حاد از بیماری ونه یک عامل خطر برای چنین بیماری هایی باشد.

هرچند که این افزایش میتواند یک عامل خطر برای بیماریهای عروقی مغزی و قلبی عروقی باشد، که اهمیت کاهش غلظت Hcy را مطرح میکند.

پیشنهادهات

۱. بررسی ارتباط سطح Hcy سرم بادرصدنورونهای دوپامینرژیک (DA) زنده درهسته ی جسم سیاه پس

ازتزریق درون مغزی سم ۶-هیدروکسی دوپامین

۲. بررسی ارتباط سطح Hcy سرم باغلظت دوپامین و متابولیتهای آن دراستریاتوم مغزپس ازتزریق درون

مغزی سم ۶-هیدروکسی دوپامین

۳. بررسی ارتباط سطح Hcy بافت مغز بادرصدنورونهای DA زنده درهسته ی جسم سیاه پس از تزریق

درون مغزی سم ۶-هیدروکسی دوپامین

۴. بررسی ارتباط سطح Hcy بافت مغز باغلظت دوپامین و متابولیتهای آن دراستریاتوم مغزپس از تزریق درون

مغزی سم ۶-هیدروکسی دوپامین

۵. بررسی ارتباط سطح Hcy بافت مغز باعلائم رفتاری پارکینسونیسم القاءشده توسط ۶-هیدروکسی دوپامین

فصل ششم

منابع

1. Akundi R.S., Macho A., Munoz E., Lieb K., Bringmann G., Clement H.W., Hull M., Fiebich B.L., 1-trichloromethyl-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline-induced apoptosis in the human neuroblastoma cell line SK-N-SH, *J Neurochem*, 91(2004): 263-273.
2. Bilang-Bleuel A., Revah F., Colin P., Locquet I., Jobert J.J., Mallet J., Horellou P., Intrastriatal injection of an adenoviral vector expressing glial-cell-line-derived neurotrophic factor prevents dopaminergic neuron degeneration and behavioral impairment in a rat model of Parkinson disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 94, pp. 8818-8823, August 1997, *Neurobiology*.
3. Bjorklund L.M., Pernaute R.S., Chung S., Andersson T., Chen I.Y.C., McNaught K.S.P., Brownell A.L., Jenkins B.G., Wahlestedt C., Kim K.S., Isacson O., Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model, *PNAS*, 99(2002) 2349-2354.
4. Carpenter R.H.S., *Neurophysiology*, Fourth edition, Arnold, London, 2003.
5. Collins M.A., Alkaloids, alcohol and Parkinson's disease, *Parkinsonism Relat Disord*, 8(2002): 422-437.
6. Fiskum G., Starkov A., Polster B.M., Chinopoulos C., Mitochondrial mechanisms of neural cell death and neuroprotective interventions in Parkinson's disease, *Ann N Y Acad Sci*, 991(2003): 9-111.
7. Gearhart D.A., Collins M.A., Lee J.M., Neafsey E.J., Increased β -Carboline 3 N-

Methyltransferase Activity in the Frontal Cortex in Parkinson's Disease, *Neurobiology of Disease*, ٧(٢٠٠٠): ٢١١-٢٠١

.٨ Gearhart D.A., Neafsey E.J., Collins M.A., Phenylethanolamine N-methyltransferase has β -carboline ٢N-methyltransferase activity: hypothetical relevance to Parkinson's disease, *Neurochemistry International*, ٤٠(٢٠٠٢): ٦٢٠-٦١١

.٩ Goren B., Kahveci N., Eyigor O., MD, Alkan T., Korfali E., Ozluk K., Effects of intranigral

vs. intrastriatal fetal mesencephalic neural grafts on motor behavior disorders in a rat Parkinson model. *Surgical Neurology* ٦٤(٢٠٠٥) S٢:٣٣–S.٢:٤١

.١٠ Grote C., Clement H.W., Wesemann W., Bringmann G., Feineis D., Riederer P., Sontag

K.H, Biochemical lesions of the nigrostriatal system by TaClo ٩١-trichloromethyl-١,٢,٣,٤-tetrahydro-beta-carboline) and derivatives, *J Neural Transm Suppl*, ٤٦(١٩٩٥): ٢٨١-٢٧٥

.١١ Hamann J., Rommelspacher H., Storch A., Reichmann H., Gille G., Neurotoxic mechanisms of ٢,٩-dimethyl- β -carbolinium ion in primary dopaminergic culture, *Journal of Neurochemistry*, ٩٨(٢٠٠٦): ١١٩٩-١١٨٥

.١٢ Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., Principles of neural science, Fourth edition,

McGraw-Hill, USA, ٢٠٠٠

.١٣ Liu B., Dluzen D.E., Oestrogen and nigrostriatal dopaminergic neurodegeneration: animal models and clinical reports of Parkinson's disease, *Clin Exp Pharmacol Physiol*, ٣٤(٢٠٠٧): ٦٥-٥٥٥

.١٤ Lorenc-Koci E., Rommelspacher H., Schulze G., Wernicke C., Kuter K., Smialowska M.,

Wieronska J., Zieba B., Ossowska K., Parkinson's disease-like syndrome in rats induced by ٢,٩-dimethyl-beta-carbolinium ion, a beta-carboline occurring in the human brain, *Behave Pharmacol*, ١٧(٢٠٠٦): ٤٧٣-٤٦٣

.١٥ Nese Tuncel , Erol Sener , Cem Cerit , Umut Karasu , Firdevs Gurer , Varol Sahintürk ,

Cengiz Baycu , Dilek Ak, Zeynep Filiz, Brain mast cells and therapeutic potential of vasoactive

intestinal peptide in a Parkinson's disease model in rats: Brain microdialysis, behavior, and microscopy. *Peptides* 26(2005) 827-836

.16 Nishino N., Noguchi-Kuno S.A., Sugiyama T., Tanaka C., [³H] Nitrendipine binding sites are decreased in the substantia nigra and striatum of the brain from patients with Parkinson's disease. *Brain Res*, 377(1986): 9-18

.17 Ole Isacson, Stephen B. Dunnett, Anders Björklund, Graft-induced behavioral recovery in an animal model of Huntington disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol. 83, pp. 2732-2738, April 1986 *Neurobiol.*

.18 Pavlovic S., Schulze G., Wernicke C., Bonnet R., Gille G., Badiali L., Kaminska A., Lorenc-Koci E., Ossowska K., Rommelspacher H., 2,6-Dimethyl-β-carbolinium, a neurotoxin

occurring in human brain, is a potent inducer of apoptosis as 1-methyl-2-phenylepyridium, *Neurosci* 139(2006) 1037-1040

.19 Peter VAN MEER and Jacob RABER, Mouse behavioral analysis in systems biology. *Biochem. J.* (2005) 389, 693-710

.20 Roghani M., Behzadi G., Neuroprotective effect of vitamin E on the early model of Parkinson's disease in rat: behavioral and histochemical evidence, *Brain Res*, 892(2001) 217-219

.21 Rohita Sharma, Catherine R. McMillan, Catherine C. Tenn, Lennard P. Niles, Physiological neuroprotection by melatonin in a 1-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *brain research* 860 (2000) 32-33

.22 Shimohama S., Sawada H., Kitamura Y., Taniguchi T., Disease model: Parkinson's Disease, *Trends in Molecular Medicine*, 9(2003) 360-361

.23 Singh S, Ahmad R, Mathur D, Sagar RK, Krishana B. , Neuroprotective effect of BDNF

in young and aged 1-OHDA treated rat model of Parkinson disease. *Indian J Exp Biol*. 2006 Sep;44(9):744-749

.24 Soto-Otero R., Mendez-Alvarez E., Sanchez-Sellero I., Cruz-Landeira A., Lamas M.L.R.,

Reduction of rat brain levels of the endogenous dopaminergic proneurotoxins 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline and 1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline by cigarette smoke, *Neurosci lett*, 298(2001) 190-193

.25 Splettstoesser F., Bonnet U., Wiemann M., Bingmann D., Busselberg D., Modulation of

voltage-gated channel currents by harmaline and harmane, British J of Pharmacology, ١٤٤ (٢٠٠٥). ٥٨-٥٢

.٢٦ Tatyana D. Sotnikova, Jean-Martin Beaulieu, Larry S. Barak, William C. Wetsel, Marc

G. Caron, Raul R. Gainetdinov, Dopamine-Independent Locomotor Actions of Amphetamines

in a Novel Acute Mouse Model of Parkinson Disease. PLoS BIOLOGY, August ٢٠٠٥| Volume

٣| Issue ٨| e.٢٧١

.٢٧ Albro, P.W., Corbett, J.T., Schroeder, J.L., ١٩٨٦. Application of the thiobarbiturate assay to the measurement of lipid peroxidation products in microsomes. J. Biochem.

Biophys. Methods. ١٣, ١٨٥-١٩٤

.٢٨ Annoura, H., Nakanishi, K., Uesugi, M., Fukunaga, A., Imajo, S., Miyajima, A., Tamura-

Horikawa, Y., Tamura, S., ٢٠٠٢. Synthesis and Biological Evaluation of New ϵ -Arylpiperidines

and ϵ -Aryl- ϵ -piperidinols: Dual Na⁺ and Ca²⁺ Channel Blockers with Reduced Affinity for Dopamine D₂ Receptors. Bioorganic & Medicinal Chemistry ١٠, ٣٧١-٣٨٣

.٢٩ Ashton, D., Willems, R., Marrannes, R., Janssen, P.A., ١٩٩٠. Extracellular ions during

veratridine-induced neurotoxicity in hippocampal slices: neuroprotective effects of flunarizine and tetrodotoxin. Brain Res. ٥٢٨(٢), ٢٢-٢١٢

.٣٠ Borlongan, C.V., Randall, T.S., Cahill, D.W., Sanberg, P.R., ١٩٩٥. Asymmetrical motor

behavior in rats with unilateral striatal excitotoxic lesions as revealed by the elevated body swing test. Brain Res. ٦٧٦(١), ٤-٢٣١

.٣١ Borlongan, C.V., Sanberg, P.R., ١٩٩٥. Elevated Body Swing Test: A New Behavioral Parameter for Rats with ٦-Hydroxydopamine-Induced Hemiparkinsonism. J Neurosci. ١٥(٧), ٥٣٧٨-٥٣٧٢

.٣٢ Brücke, T., Wöber, C.H., Podreka, I., Wöber-Bingöl, C., Asenbaum, S., Aull, S.,

Wenger, S., Ilievam D., Harasko-van der Meer, C., Wessely, P., et al. ١٩٩٥. D₂ Receptor

Blockade by Flunarizine and Cinnarizine Explains Extrapyramidal Side Effects. A SPECT Study.

J Cereb Blood Flow Metab. ١٥(٣), ٨-٥١٣

.۳۳ Chen, T.F., Chiu, M.J., Huang, C.T., Tang, M.C., Wang, S.J., Wang, C.C., Huang, R.F.,

۲۰۱۱. Changes in dietary folate intake differentially affect oxidized lipid and mitochondrial DNA damage in various brain regions of rats in the absence/presence of intracerebroventricularly injected amyloid b-peptide challenge. *Br. J Nutr.* ۱۰۵(۹), ۳۰۲-۱۲۹۴

.۳۴ Dauer, W., Przedborskim S., ۲۰۰۳. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron* ۳۹(۶), ۹۰۹-۸۸۹. Review.

.۳۵ Fujita, M., Nishino, H., Kumazaki, M., Shimada, S., Tohyama, M., Nishimura, T., ۱۹۹۶.

Expression of dopamine transporter mRNA and its binding site in fetal nigral cells transplanted into the striatum of ۶-OHDA lesioned rat. *Mol. Brain Res.* ۳۹, ۱۲۷-۱۳۶

.۳۶ Haghdoust-Yazdi, H., Fraidouni, N., Faraji, A., Jahanihashemi, H., Sarookhani, M., ۲۰۱۲. High intake of folic acid or complex of B vitamins provides anti-Parkinsonism effect: no role for serum level of homocysteine. *Behav. Brain Res.* ۲۳۳(۲), ۸۱-۳۷۵

.۳۷ Hancock, D.B., Martin, E.R., Stajich, J.M., Jewett, R., Stacy, M.A., Scott, B.L., Vance

J.M., Scott, W.K., ۲۰۰۷. Smoking, caffeine, and nonsteroidal anti-inflammatory drugs in families with Parkinson disease. *Arch. Neurol.* ۶۴, ۵۷۶-۵۸۰

.۳۸ Iancu, R., Mohapel, P., Brundin, P., Paul, G., ۲۰۰۵. Behavioral characterization of a unilateral ۶-OHDA-lesion model of Parkinson's disease in mice. *Behav. Brain Res.* ۱۶۲(۱), ۱۰-۱

.۳۹ Jenner, P., Olanow, C.W., ۱۹۹۶. Oxidative Stress and the Pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* ۴۷, ۱۶۱-۱۷۰

.۴۰ Jia, H., Liu, Z., Li, X., Feng, Z., Hao, J., Li, X., Shen, W., Zhang, H., Liu, J., ۲۰۱۰.

Synergistic anti-Parkinsonism activity of high doses of B vitamins in a chronic cellular model.

Neurobiology of Aging ۳۱, ۶۳۶-۶۴۶

.۴۱ Lau, L.M., Koudstaal, P.J., Van Meurs, J.B.J., Uitterlinder, A.G., Hofman, A., Breteler,

M.M.B., ۲۰۰۵. Methylenetetrahydrofolate reductase C۶۷۷T genotype and PD. *Ann. Neurol.* ۵۷, ۹۲۷-۹۳۰

.۴۲ Paxinos, G., Watson, C., ۲۰۰۷ The rat brain in stereotaxic coordinates. ۶th ed. San Diego, CA: Academic Press.

.٤٣ Qu, L., Wang, Y., Zhang, H.T., Li, N., Wang, Q., Yang, Q., Gao, G.D., Wang, X.L., ٢٠١٤.

٦-OHDA induced calcium influx through N-type calcium channel alters membrane properties via PKA pathway in substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons. *Neurosci. Lett.* ٢٣, ٥٧٥C: ٦-١

.٤٤ Scheufler, E., Peters, T., ١٩٩٠. Phosphatidylserine monolayers as models for drug uptake into membranes and tissue. *Cell Biol. Int. Rep.* ١٤(٤), ٨-٣٨١

.٤٥ Shimohama, S., Sawada, H., Kitamura, Y., Taniguchi, T., ٢٠٠٣. Disease model: Parkinson's Disease, *Trends in Molecular Medicine* ٩, ٣٦٥-٣٦٠

.٤٦ Surmeier, D.J., Schumacker, P.T., ٢٠١٣. Calcium, bioenergetics, and neuronal vulnerability in Parkinson's disease. *J. Biol. Chem.* ٢٨٨, ١٠٧٣٦-١٠٧٤١

.٤٧ Tatton, N.A., ٢٠٠٠. Increased caspase ٣ and bax immunoreactivity accompany nuclear GAPDH translocation and neuronal apoptosis in Parkinson's disease. *Exp. Neurol.* ١٦٦, ٢٩-٤٣

.٤٨ Williams, M.E., Brust, P.F., Feldman, D.H., Patthi, S., Simerson, S., Maroufi, A., McCue, A.F., Veliçelebim G., Ellis, S.B., Harpold, M.M., ١٩٩٢. Harpold, Structure and functional expression of an omega-conotoxin-sensitive human N-type calcium channel. *Science* ٢٥٧, ٣٨٩-٣٩٥

.٤٩ Yuan, H., Sarre, S., Ebinger, G., Michotte, Y., ٢٠٠٥. Histological, behavioral and neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal ٦-OHDA lesions as rat models of Parkinson's disease. *J Neurosci. Methods* ١٤٤(١), ٤٥-٣٥

٥٠. Meenakshi Sharma, Manisha Tiwari, and Rakesh Kumar Tiwari, Biomedical Research, University of Delhi, Hyperhomocysteinemia: Impact on Neurodegenerative Diseases ٢٠١٥,

٥١. Jia-Min Zhuo*, Hong Wang, and Domenico Praticò Is Hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker or neither?,

Department of Pharmacology, Philadelphia, PA ١٩١٤٠ ٢٠١١ September ; ٣٢(٩): ٥٦٢-٥٧١

.٥٢ S. Brustolin, R. Giuglian, and T. M. Félix

Serviço de Genética Médica, Departamento de Genética, Porto Alegre, RS, Brasil

Genetics of homocysteine metabolism and associated disorders, ٢٠١٠ January ; ٤٣(١): ١-٧.

٥٣. Kevin L. Schalinske* and Anne L. Smazal ,Department of Food Science and Human Nutrition, Ames, IA, Homocysteine Imbalance: a Pathological Metabolic Marker

*٥٤. Joanna Malinowska, Joanna Kolodziejczyk and Beata Olas

Department of General Biochemistry, Poland, The disturbance of hemostasis induced by hyperhomocysteinemia; the role of antioxidants, Vol. ๘๑, No ๒/๒๐๑๒, ๑๘๐-๑๙๕

๘๘. M. PETRAS, Z. TATARKOVA, M. KOVALSKA, D. MOKRA, D. DOBROTA, J. LEHOTSKY, A.

DRGOVA, HYPERHOMOCYSTEINEMIA AS A RISK FACTOR FOR THE NEURONAL SYSTEM DISORDER, ๒๒-๑๐, ๑, ๖๐, ๒๐๑๕

Abstract

Objective: Growing evidence indicates that homocysteine (Hcy) may be involved in the pathophysiology of several neurological disorders including Parkinson's disease. In the present study, the association between blood Hcy concentration and the degree of behavioral symptoms in the 1-Hydroxydopamine (1-OHDA)-induced parkinsonism in rat was evaluated. **Method:** Total serum Hcy (tHcy) was measured before and 1 weeks after the Intracerebral injection of 1-OHDA. Apomorphine-induced rotational test was performed at second, third and sixth weeks after 1-OHDA injection.

Results: No correlation between tHcy in before 1-OHDA injection and severity of the rotations after 1-OHDA injection was observed. On the other hand, 1-OHDA treatment significantly decreased tHcy level.

Conclusions: However, this reduction was only observed in animals with low degree of rotations and in rats with high number of rotations; tHcy did not change significantly. Considering the direct correlation between the severity of rotational behavior and the degree of lesion in the substantia nigra (SN), our data indicate that higher tHcy values can predict higher SN dopaminergic neurodegeneration.



Contents lists available at ScienceDirect

Pharmacology, Biochemistry and Behavior

journal homepage: www.elsevier.com/locate/pharmbiochembeh



Evaluation of the association between blood homocysteine concentration and the degree of behavioral symptoms in the 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rat



Hashem Haghdoost-Yazdi^{a,*}, Mohammad Sarookhani^a, Ayda Faraj^a, Negin Fraidouni^a, Tahereh Dargahi^a, Mohammad Hosein Yaghoubidoust^a, Hassan Azhdari-Zarmehri^b

^a Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

^b Department of Basic sciences, Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 January 2014

Received in revised form 1 June 2014

Accepted 22 June 2014

Available online 30 June 2014

Keywords:

Homocysteine

Parkinson's disease

6-Hydroxydopamine

Apomorphine-induced rotational test

Cell replacement therapy

B vitamin supplementation

ABSTRACT

Growing evidence indicates that homocysteine (Hcy) may be involved in the pathophysiology of several neurological disorders including Parkinson's disease. In the present study, the association between blood Hcy concentration and the degree of behavioral symptoms in the 6-hydroxydopamine (6-OHDA)-induced Parkinsonism in rat was evaluated. Total serum Hcy (tHcy) was measured before and 6 weeks after the intracerebral injection of 6-OHDA. Apomorphine-induced rotational test was performed at second, third and sixth weeks after 6-OHDA injection. Subsequently, cell replacement therapy was performed on rats with good rotation score. No correlation between tHcy in before 6-OHDA injection and severity of the rotations after 6-OHDA injection was observed. On the other hand, 6-OHDA treatment significantly decreased tHcy level. However, this reduction was only observed in animals with low degree of rotations and in rats with high number of rotations; tHcy did not change significantly. Furthermore, 10 weeks after cell transplantation, tHcy was significantly lower than that found before therapy if the rats showed good improvement in the degree of rotations. We also examined the effect of different supplements of B vitamins on tHcy before and after 6-OHDA injection. In healthy rats, all kinds of B vitamins and also supplement B6 or B12 alone reduced tHcy. Following 6-OHDA injection, B vitamin supplementation failed to cause remarkable effect. Considering the direct correlation between the severity of rotational behavior and the degree of lesion in the substantia nigra (SN), our data indicate that higher tHcy values can predict higher SN dopaminergic neurodegeneration.

© 2014 Elsevier Inc. All rights reserved.